



UNIVERSIDADE DO VALE DO TAQUARI - UNIVATES
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DPPH E QUELANTE
DA FARINHA E EXTRATO DO PSEUDOFRUTO DE *HOVENIA
DULCIS* THUNBERG OBTIDO POR ULTRASSOM**

Renata Pelin Viciniescki

Lajeado, novembro de 2020

Renata Pelin Viciniescki

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DPPH E QUELANTE DA FARINHA
E EXTRATO DO PSEUDOFRUTO DE HOVENIA DULCIS THUNBERG OBTIDO
POR ULTRASSOM**

Trabalho final da disciplina de Conclusão de Curso II, do Curso de Engenharia Química, da Universidade do Vale do Taquari - Univates, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cleide Borsoi

Lajeado, novembro de 2020

“Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser descoberto.” Carl Sagan

RESUMO

A árvore *Hovenia dulcis* Thunberg (*H. dulcis* Thunb.), conhecida popularmente como uva japonesa, é um vegetal invasor que possui densa população na região sul do Brasil. Esta planta possui um pseudofruto rico em carboidratos e detentor de sabor doce, que pode ser utilizado na alimentação humana e animal, porém pouco explorado no país para fins alimentícios. Visando o proveito destes pseudofrutos, este trabalho busca extrair polissacarídeos que possam ser empregados em aditivos para a indústria alimentícia, apresentando atividade antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e quelante. Para o estudo, os pseudofrutos foram obtidos na região serrana do Rio Grande do Sul, devidamente sanitizados e caracterizados de maneira físico-química. A extração do extrato foi realizada por método de ultrassom na condição de 550 W de potência, frequência do equipamento a 20 kHz, tempo de exposição de 50 minutos e temperatura de 60 °C no sonicador de ponteira. O material obtido na extração sofreu purificação por filtração. Com o extrato devidamente purificado, seus constituintes foram caracterizados bem como suas propriedades bioativas de antioxidante DPPH e quelante de Fe^{+2} , análises igualmente realizadas para a farinha do pseudofruto. O extrato não apresentou polissacarídeos, apenas os monossacarídeos glicose e frutose, o que demonstra que a técnica de ultrassom nas condições utilizadas não foi eficiente na extração de polissacarídeos, já as análises de antioxidante DPPH e quelante Fe^{+2} também não apresentaram essas atividades bioativas. Já a farinha do pseudofruto apresentou atividade em ambas análises de antioxidantes, com IC50 (concentração do analito que induz metade do efeito máximo) de 3,36 ($\pm 0,01$) mg.mL^{-1} para DPPH e 2,00 ($\pm 0,01$) mg.mL^{-1} para quelante, valores próximos aos encontrados em literatura. Assim conclui-se que apesar do método e as condições de extração neste trabalho não resultarem na extração de polissacarídeos a farinha de pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., apresenta atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe^{+2} .

Palavras-chave: *Hovia dulcis* Thunberg, polissacarídeos, ultrassom, antioxidante, DPPH, quelante.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos antioxidantes utilizados na indústria de alimentos.....	22
Figura 2 - Folha da planta <i>H. dulcis</i> Thunb. (A) e suas flores características (B).....	26
Figura 3 - Pseudofrutos da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	27
Figura 4 - Processo de cavitação por ultrassom.....	32
Figura 5 – Fluxograma de processo de extração e caracterização do extrato do pseudofruto de <i>H. dulcis</i> Thunb.....	35
Figura 6 - Perfil cromatográfico dos carboidratos presentes no extrato do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb., pelo método 1.....	49
Figura 7 - Curva padrão da atividade antioxidante de DPPH da farinha do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	52
Figura 8 - Curva padrão da atividade quelante de Fe ⁺² da farinha do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização físico-química do pseudofruto de <i>H. dulcis</i> Thunb.....	29
Tabela 2 - Condição operacional do processo de extração por ultrassom.....	41
Tabela 3 – Caracterização centesimal do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	45
Tabela 4 – Perfil quantitativo e qualitativo de monossacarídeos presentes no extrato do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb. extraído por ultrassom, pelos métodos cromatográficos 1 e 2.....	49
Tabela 5 – IC50 da atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe+2 da farinha do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	53
Tabela 6 – Capacidade antioxidante de DPPH de conservantes comerciais e da farinha do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Antioxidantes mais utilizados na indústria alimentícia, permitidos pela legislação brasileira	23
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcento
±	Mais ou menos
A	Amostra A
ABA	Absorbância
ABTS	Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
B	Amostra B
BHT	Butil-hidroxitolueno
CNP	Florestas Centro Nacional de Pesquisa de Florestas
CUPRAC	<i>Cupric ion reducing antioxidant capacity</i>
Da	Dalton
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	<i>Degree of polymerization</i>
DP	Desvio padrão

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
BHA	Butil-hidroxianisol
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária
ERRO's	Espécies reativas de oxigênio
FRAP	<i>Ferric reducing antioxidant power</i>
g	Gramas
h	Horas
IC50	Concentração que induz metade do efeito máximo
<i>H. dulcis</i> Thunb.	<i>Hovenia dulcis</i> Thunberg
kDa	Kilo Dalton
kHz	Kilohertz
km	Quilômetro
L	Litro
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
m/m	Proporção massa por massa
m/v	Proporção massa por volume
mg	Miligrama
ml	Mililitro
mm	Micrômetro

nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
ORAC	<i>Oxygen radical absorbance capacity</i>
PANC	Planta alimentícia não convencional
ppm	Partes por milhão
rpm	Rotações por minuto
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
TNT	Tecido não tecido
TRAP	<i>Total reactive antioxidant potential</i>
U/ml	Concentração de atividade enzimática
W	Watts
µg	Micrograma
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Objetivos.....	13
1.1.1 Objetivo geral	13
1.1.2 Objetivos específicos	14
1.2 Justificativa	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 Carboidratos.....	16
2.2 Polissacarídeos.....	17
2.2.1 Principais propriedades e polissacarídeos utilizados na indústria	18
2.3 Antioxidantes	21
2.4 Antioxidantes quelantes	24
2.5 <i>Hovenia dulcis</i> Thunberg	25
2.5.1 Aplicações e caracterização do pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	28
2.6 Métodos de extração de polissacarídeos	30
2.6.1 Extração de polissacarídeos por ultrassom	31
3 METODOLOGIA	34
3.1 Etapa 1 – Colheita, processamento e caracterização do pseudofruto	36
3.1.1 Colheita dos pseudofrutos.....	36
3.1.2 Processamento do pseudofruto	37
3.1.3 Determinação do Teor de Umidade	37
3.1.4 Determinação do Teor de Lipídios.....	37
3.1.5 Determinação do Teor de Fibra Bruta	38
3.1.6 Determinação do Teor de Proteínas	39
3.1.7 Determinação do Teor de Carboidratos Totais.....	40
3.1.8 Determinação do Valor Calórico.....	40
3.2 Etapa 2 - Extração de polissacarídeos	40
3.2.1 Pré-tratamento.....	41
3.2.2 Extração do extrato por ultrassom	41
3.3 Etapa 3 - Caracterização do extrato.....	42
3.3.1 Caracterização do extrato.....	42

3.3.2 Determinação do potencial de antioxidante DPPH.....	42
3.3.3 Determinação do potencial de quelante de Fe ²⁺	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	44
4.1 Caracterização do Pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	44
4.2 Caracterização do extrato do Pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	47
4.3 Atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe ⁺² da farinha do Pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	51
4.4 Atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe ⁺² do extrato do Pseudofruto da <i>H. dulcis</i> Thunb.....	56
5 CONCLUSÃO	57
6 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	58
REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

A árvore *H. dulcis* Thunb. é um vegetal originário da Ásia é encontrado principalmente na China, Japão e Coreia do Norte e Sul. Participa da família botânica *Rhamnaceae*, que se constituem em plantas angiospérmicas, possuindo frondosa copa e pseudofrutos com intenso sabor doce e ricos em carboidratos, proporcionando atração da fauna apícola e demais animais que os consomem. A madeira é amplamente utilizada e possui qualidade para produção de móveis (LIMA, 2006).

A *H. dulcis* Thunb. foi introduzida no Brasil principalmente na região sul, possivelmente em meados de 1987, pelo Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária (CNPFlorestas/EMBRAPA) que adquiriu sementes da variedade *H. dulcis* Thunb. da Academia Chinesa de Florestas. A origem das sementes deu-se de duas regiões da China e foi utilizada para fins de ornamentação no Brasil (RIGATTO; PEREIRA; MATTOS, 2001).

Apesar do uso inicialmente voltado para ornamentação a *H. dulcis* Thunb. possui um pseudofruto com inúmeras possibilidades de utilização. O pseudofruto pode ser utilizado na alimentação humana na forma de doces e geleias e na alimentação animal na forma de farinhas (XU; DENG; SUNG, 2014). Porém um dos usos mais nobres pode ser obtido quando o pseudofruto atinge estágio final de maturação. Neste estágio o pseudofruto possui grande quantidade de carboidratos, entre os quais polissacarídeos com atividades bioativas como atividade hipoglicemiante, antioxidante, hepatoprotetor, antitumoral e quelante (YANG et al., 2019a).

Segundo Liu et al. (2020) os polissacarídeos provenientes do pseudofruto na *H. dulcis* Thunb. possuem, função antioxidante e quelante de Fe^{+2} , podendo ser empregados na forma de aditivos alimentares e farmacológicos, a fim de tirar proveito dos benefícios que estas funções podem proporcionar ao organismo humano. A atividade antioxidante e quelante em aditivos alimentares podem minimizar problemas cardíacos, musculares e reverter danos causados pelo envelhecimento precoce, além de atuarem como conservantes (DE BIAGGI et al., 2020).

Para obtenção destes polissacarídeos com atividade antioxidante e quelante, o método que pode ser aplicado é a extração por ultrassom. Este método obtém polissacarídeos com alta estabilidade térmica e rendimento superior a métodos como extração por água quente e solvente (KRUG, 2008). A extração por ultrassom é uma técnica considerada limpa e segura, não gera grandes volumes de efluentes nem resíduos perigosos à saúde humana e ao ambiente, sendo uma técnica altamente adequada para alcance de polissacarídeos com fins alimentares (YANG et al., 2020).

Logo, o aproveitamento de recursos naturais regionais se torna uma alternativa na obtenção de produtos com maior valor agregado. Deste modo, este estudo visa a avaliação da utilização e processamento do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. para fins alimentícios e industriais. Para isso, será realizada a extração por método de ultrassom e caracterização dos polissacarídeos do pseudofruto e determinação do seu potencial antioxidante e quelante.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho consiste na obtenção e caracterização da farinha do pseudofruto da árvore *H. dulcis* Thunb. e avaliação do processo de extração por ultrassom quanto a composição e atividade antioxidante e quelante do extrato obtido.

1.1.2 Objetivos específicos

São designados como objetivos específicos:

- Caracterizar a farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. quanto suas propriedades físico-químicas.
- Avaliar a condição de obtenção do extrato do pseudofruto de *H. dulcis* Thunb. utilizando ultrassom, quanto ao rendimento de extração.
- Caracterizar o produto obtido da extração do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.
- Verificar o potencial antioxidante e quelante da farinha e o extrato do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

1.2 Justificativa

A *H. dulcis* Thunb. apesar de não ser uma espécie nativa brasileira, está perfeitamente adaptada às condições ambientais da região sul do Brasil, logo com sua população crescendo, atualmente a *H. dulcis* Thunb. já é um recurso natural abundante. Contudo, apesar da quantidade disponível de árvores, esta espécie ainda não possui uma utilização nobre de suas partes, como a madeira e os pseudofrutos (RIGATTO; PEREIRA; MATTOS, 2001).

Apesar do consumo do pseudofruto da uva japonesa não ser popular no Brasil, nos países onde a *H. dulcis* Thunb. é nativa, como China e Japão, seu uso é amplamente aplicado na alimentação humana e na obtenção de ativos bioquímicos empregados na indústria e na área farmacêutica (LIU et al., 2020). Logo o aproveitamento deste recurso natural pouco explorado na região sul do Brasil, através da extração de produtos com potencial alimentício, pode gerar muito valor agregado ao pseudofruto, uma vez que este recurso está sendo produzido, porém subutilizado apenas como esporádica alimentação animal e paisagismo (FIORIO et al., 2015).

Com o intuito de utilizar os pseudofrutos da uva japonesa, disponíveis em grandes quantidades no seu período de maturação, é possível extrair substâncias úteis com fins nobres, como para a indústria de alimentos. Pode-se extrair do

pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. polissacarídeos com ação antioxidante e quelantes de ferro, de maneira a empregá-los em aditivos alimentares, enriquecendo e agregando valor ao pseudofruto (DE BIAGGI et al., 2020).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Carboidratos

O carboidrato é um macronutriente muito importante na alimentação e fonte de energia para os seres vivos. O termo “carboidrato” compreende uma estrutura química elementar de $C_x(H_2O)_y$, onde ocorre a ligação entre átomos de carbono e átomos de oxigênio e hidrogênio em quantidades proporcionais às da água. Quando a estrutura elementar se repete apenas uma ou duas vezes, tem-se os monossacarídeos e dissacarídeos respectivamente, ao aumentar a cadeia de repetição da estrutura básica dos carboidratos, tem-se os oligossacarídeos e os polissacarídeos, carboidratos com maior complexidade que possuem funções diversas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os carboidratos compreendem mais de 90% dos constituintes de toda matéria vegetal e fazem parte da alimentação humana como componentes naturais ou aditivos. Possuem diversos tipos de estrutura molecular, configuração, tamanhos de cadeia de carbono e propriedades químicas e físicas, fazendo dos carboidratos efetivos em inúmeras atividades fisiológicas no corpo humano. Podem ser modificados de maneira química e física a fim de ampliar suas propriedades e aplicabilidades (STEPHEN; PHILLIPS; WILLIAMS, 2016).

2.2 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são carboidratos em cadeia polimerizada, genericamente chamados de glicanos, proveniente de monossacarídeos dispostos em cadeia linear ou ramificada, compostas de 10 a mais de 60.000 unidades, ligadas entre si através de ligações glicosídicas. A quantidade de monossacarídeos formadores de um poli, caracteriza o grau de polimerização (DP, do inglês *degree of polymerization*). Essas estruturas possuem alto peso molecular e a maior parte dos carboidratos se encontram enquadrados como polissacarídeos. São os polissacarídeos que, apesar de não possuírem sabor doce, possuem capacidade de conferir textura, viscosidade e palatabilidade aos alimentos, o que gera interesse da indústria na aplicação alimentícia (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

Possuem diversas funções no organismo animal e vegetal, como reserva de energia na forma do polissacarídeo glicogênio e exercem função estrutural como a celulose em células vegetais. Estima-se que 90% da massa dos vegetais seja composta de polissacarídeos (STEPHEN; PHILLIPS; WILLIAMS, 2016).

São classificados em homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos. Os homopolissacarídeos são formados apenas por um tipo de monossacarídeo, no qual exercem a função estrutural, como por exemplo a celulose, que é um carboidrato de cadeia linear cuja função é enrijecer e dar forma às paredes celulares de vegetais, não sendo solúvel em água. Já os heteropolissacarídeos são açúcares formados por mais de um tipo de monossacarídeos, que tanto em animais como em vegetais, cumprem a função de preenchimento extracelular. Um exemplo de heteropolissacarídeos são os glicosaminoglicanos, que se ligam a proteínas na matriz celular humana que confere força e resistência mecânica aos tecidos (NELSON; COX, 2011).

Podem ser classificados inclusive pela sua digestibilidade no organismo humano, onde fornecem ou não energia metabólica. Os polissacarídeos digeríveis são fonte de energia e carboidratos para o corpo humano, porém o único polissacarídeo prontamente digerível pelo corpo humano é o amido, composto por outros dois polissacarídeos, a amilose e amilopectina. Os polissacarídeos não digeríveis estão disponíveis em quantidades significativas em vegetais e não são metabolizados pelo

organismo humano, não exercendo função energética. A celulose é um dos polissacarídeos não digeríveis e é o carboidrato mais abundante do planeta Terra, com estimativa que 50% de todo carbono existente no planeta esteja na forma de celulose. Além da celulose, tem-se também a classe das hemiceluloses, das pectinas e gomas (VIEIRA, 2003).

Os polímeros de carboidratos não-digeríveis são nomeados de fibras alimentares ou dietéticas, logo, vegetais que possuem grandes quantidades de fibras alimentares em sua composição, possuem também grande quantidade de polissacarídeos. As fibras dietéticas podem ser solúveis ou insolúveis em água, sendo as insolúveis responsáveis pelo funcionamento do sistema gastrointestinal e formação do bolo fecal (MÁRQUEZ, 2011). Os polissacarídeos deste grupo são a celulose, a hemicelulose e a lignina. Os carboidratos das fibras alimentares solúveis em água, cumprem a função de regular os níveis de colesterol no organismo humano pois capturam os sais biliares, reduzindo os teores de colesterol. Os polissacarídeos solúveis pertencentes ao grupo das fibras são as pectinas e as gomas (LEWINSOHN; PRADO, 2002).

2.2.1 Principais propriedades e polissacarídeos utilizados na indústria

Polissacarídeos ou seus glicoconjugados são empregados principalmente na indústria de alimentos, como opção de aditivo de baixa caloria para produtos do tipo *light* e *low fat*. Derivados e novas versões de aditivos alimentares são em maioria provenientes de polissacarídeos, porém existe uma grande deficiência em suprir o mercado com polissacarídeos de alta qualidade. Possuem propriedade de formação de géis e espessante, gelatinização de soluções aquosas que são utilizadas na alteração da textura e viscosidade (GARCIA-CRUZ, 2001).

Porém com novas técnicas de extração, estão sendo obtidos polissacarídeos com capacidade antioxidante, quelante e propriedades bioquímicas como efeito hepatoprotetor e atividades imunomoduladoras, que podem ter seus benefícios usufruídos através da inserção destes produtos na alimentação. Contudo ainda há pouca informação disponível sobre a extração e purificação em larga escala de

polissacarídeos para estes fins nobres e há poucos exemplos destes polissacarídeos sendo utilizados na indústria (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A propriedade mais utilizada dos polissacarídeos é a alteração da viscosidade, pelo tamanho, forma e conformação que adotam no solvente. Devido a estrutura química, os polissacarídeos são solúveis em água e quando inseridos em solução aquosa formam géis, que podem aumentar ou diminuir sua viscosidade de acordo com o tipo de polissacarídeo empregado ou concentração (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006). A forma adotada em solução aquosa depende das ligações glicosídicas entre os monossacarídeos formadores dos polissacarídeos, que podem assumir conformações aleatórias ou lineares. A orientação linear é mais comum entre esses carboidratos e geram fricção entre si, consumindo energia e aumentando a viscosidade. Contudo as moléculas que possuem conformação aleatória ocupam menos espaço que as lineares, não ocasionando ficção e por consequência não promovem grande aumento na viscosidade das soluções (NELSON; COX, 2011).

A formação de géis também é uma propriedade importante que os polissacarídeos apresentam, a qual consiste na produção de redes tridimensionais de partículas ou moléculas conectadas que agregam grande quantidade de uma solução líquida. O gel provém da interação de substâncias poliméricas como os polissacarídeos e as proteínas, ligados por ligações de hidrogênio, iônicas ou covalentes, envoltas em soluções aquosas não participantes da zona de junção. Os géis assumem propriedades de sólidos e líquidos e características reológicas do estado de semi sólido viscoelástico, conferindo textura e consistência necessária em suas aplicações (NAJAFPOUR, 2017).

O polissacarídeo mais utilizado na indústria de alimentos para conferência de viscosidade e textura é o amido e seus derivados. Ele está presente em caules, raízes e folhas de inúmeros vegetais como trigo, batata e cevada, trata-se de um polissacarídeo muito complexo, fundamental para a nutrição humana e animal (BORGES, 2009). Existem distintos métodos de obtenção de amidos. Para a utilização alimentícia, o amido extraído por moagem da fonte vegetal e pouco processado, chamado de amido nativo, não sendo ideal para aplicações em alimentos processados à baixas temperaturas e elaborados, pois não se dissolve sem a ajuda do aumento de temperatura. Já o amido modificado confere formação de géis em

alimentos, com aumento da solubilidade em água e em espectro maior de pH e estabilidade (NUNES et al., 2017).

Outros derivados do amido são as maltodextrinas e os maltooligossacarídeos, obtidos da hidrólise ácida ou enzimática do amido. A maltodextrina é mais utilizada na indústria alimentícia pois assume aspecto aquoso e solúvel em água, chamado de xarope de glicose. As maltodextrinas são as substâncias utilizadas como substitutas da textura da gordura vegetal hidrolizada e da gordura animal. Elas podem prevenir a cristalização, o congelamento e microencapsular aromas em produtos de panificação (LORET et al., 2004).

Os demais polissacarídeos utilizados na indústria e que não se originam do amido são nomeados de polissacarídeos não amiláceos, conhecidos como hidrocolóides ou gomas alimentares e são comercializados na forma de pó (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006). Os principais representantes desta classe de aditivos alimentares são a celulose, pectina (LIMA, 2003), galactomananos (AGUILERA; CADOCHÉ; LOPEZ, 2001), goma xantana (BORGES, 2009), goma guar e a goma locuste (AGUILERA; CADOCHÉ; LOPEZ, 2001). Todos hidrocolóides podem apresentar propriedades alteradoras de viscosidade e geração de géis. Porém são utilizados na indústria de alimentos pois podem produzir efeitos como evitar congelamento, promover estrutura e estabilização de espumas, agregar volume e auxiliar na melhoria da palatabilidade de alimentos, ao reduzirem a fricção com a boca do consumidor (GARCIA-CRUZ, 2001).

Um polissacarídeo com propriedades bioquímicas e largamente utilizado na indústria de alimentos é a inulina, empregada em alimentos destinados a pessoas com distúrbios metabólicos como a diabetes. Pode se originar de mais de 30.000 vegetais, principalmente da chicória e alcachofra. É um alimento de baixo teor energético com atuação semelhante a uma fibra dietética (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

Os polissacarídeos ou seus glicoconjugados demonstraram exibir múltiplas atividades biológicas, incluindo anticarcinogênica, anticoagulante, imunoestimulante e antioxidante. Atualmente, muita atenção tem sido dada ao efeito antioxidante de vários compostos naturais microbianos ou vegetais, incluindo os polímeros de carboidratos, porque eles se tornam mais importante devido a sua grande aplicação na indústria

alimentícia ou farmacêutica. Geralmente, os antioxidantes representam um grupo diverso de tipos hidrofílicos e hidrofóbicos de compostos naturais que desempenham um papel importante na proteção de organismos vivos (CAPEK; MACHOVÁ; TURJAN, 2009).

Assim estudos sobre as atividades antioxidantes em extratos brutos de polissacarídeos vegetais, polissacarídeos purificados ou glicoproteínas de várias plantas medicinais indicam que esses carboidratos vegetais mostraram atividades antioxidantes significativas e podem ser explorados como antioxidantes potenciais (SUN et al., 2009). Na literatura há presença de 33 polissacarídeos que possuem funções biológicas como antioxidante, 34 que realizam efeito hepatoprotetor e atividades imunomoduladoras (LIU et al., 2015). Geralmente na indústria de alimentos em larga escala são utilizados antioxidantes artificiais e naturais como o tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) e betacaroteno, contudo ainda não há larga utilização de polissacarídeos para este fim (YANG et al., 2019a).

2.3 Antioxidantes

O processo de oxidação é fundamental à vida, garantindo a produção de energia celular e regulação do crescimento de microrganismos e inibição de infecções de vírus e bactérias. Contudo, a produção desenfreada de radicais livres em um organismo ocasiona patologias como câncer, envelhecimento precoce e processos degenerativos. Os oxidantes presentes no corpo humano são conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERRO's), responsáveis pelo aumento nos danos aos tecidos, por oxidar moléculas de proteínas, lipídios, carboidratos e DNA. Logo, nas últimas décadas houve um crescimento no interesse de consumo de suplementos alimentares antioxidantes (CHENG, 2016).

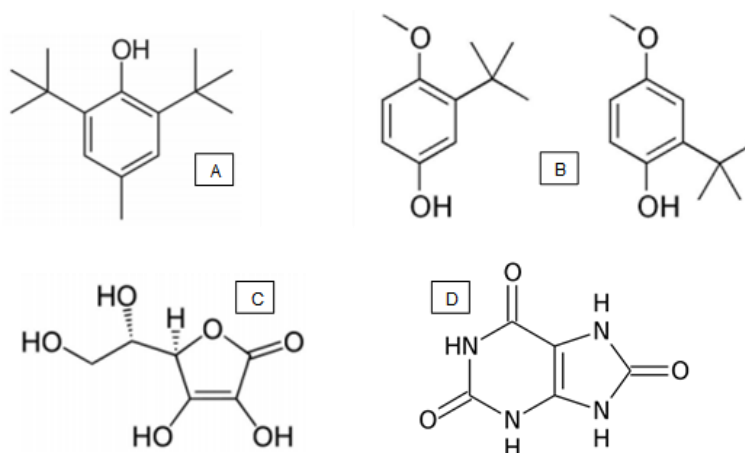
Algumas substâncias possuem capacidade de inibir ou prevenir significativamente a oxidação de substratos. Essas substâncias são os antioxidantes, compostos que em mínimas concentrações possuem grande poder de combate contra a oxidação. Agem em dois diferentes mecanismos para proteção antioxidante. O primeiro como antioxidantes “primários” que capturam radicais livres e o segundo mecanismo como antioxidantes “secundários” ou preventivos que agem na

desativação de metais e regeneração dos antioxidantes primários (KOLEVA et al., 2012).

A capacidade antioxidante das substâncias pode ser expressa através de parâmetros como a quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, co-oxidação do β -caroteno para a oxidação do LDL), poder de remoção de radical orgânico (ABTS - ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), o poder de redução de metal (CUPRAC - *cupric ion reducing antioxidant capacity*, FRAP - *ferric reducing antioxidant power*), capacidade de remoção de um radical peroxil (TRAP – *total reactive antioxidant potential*, ORAC - *oxygen radical absorbance capacity*) e DPPH - peroxidação do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (ROCHA et al., 2012).

Os principais antioxidantes utilizados na indústria de alimentos são de origem natural e artificial e possuem similaridade quanto à sua estrutura molecular básica, tendo pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxila ligado. Estes antioxidantes são o butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT), galatos (propila, octila ou duodecila), ácido ascórbico e ácido úrico (Figura 1). Esse último, apesar de ter ação antioxidante seu consumo demasiado está associado à disfunção renal, endotelial e à hipertensão (FALLER, 2009).

Figura 1 – Estrutura química dos antioxidantes utilizados na indústria de alimentos



A) Butilhidroxitolueno (BHT), B) Butilhidroxianisol (BHA), comercialmente mistura de duas moléculas 2-BHA E 3-BHA (esquerda para direita), C) Ácido ascórbico e D) Ácido úrico

Fonte: Adaptado de Faller et al. (2009).

No intuito de utilizar tal propriedade bioquímica em prol da saúde humana, os antioxidantes que são adicionados em alimentos processados possuem legislação específica para regulamentação de seu uso (Quadro 1) de acordo com Agência Nacional De Vigilância Sanitária - ANVISA (ANVISA, 2019). Com o consumo destes alimentos, espera-se que ocorra aumento nas defesas naturais das células e eliminar radicais livres. Contudo, antioxidantes sintéticos podem causar hepatotoxicidade e carcinogênese (YANG et al., 2019a).

Quadro 1 - Antioxidantes mais utilizados na indústria alimentícia, permitidos pela legislação brasileira.

ANTIOXIDANTES	CÓDIGO INS	IDA*
Ácido ascórbico	300	Não especificada
Ácido cítrico	330	Não limitada
Butil-hidroxianisol (BHA)	320	0-0,5
Bulti-hidroxitolueno (BHT)	321	0,03
Galato de propila	310	0-1,4
Galato de dodecila	312	Não especificada
Galato de octila	311	Não especificada
Tocoferóis	307	0,15-2

*IDA: Ingestão Diária Aceitável em Gramas

Fonte: Adaptado de ANVISA (2019).

Para obtenção destas substâncias naturais pode-se utilizar alguns vegetais e algas que possuem quantidades significativas de antioxidantes. Nos últimos anos os polissacarídeos provenientes de vegetais vêm ganhando mais atenção devido apresentarem atividades antioxidantes e grande presença destas substâncias. Alguns polissacarídeos demonstram capacidade de eliminação de radicais livres, inibição de doenças cardio e cerebrovasculares e atividade anti envelhecimento (WANG, 2017).

Os polissacarídeos possuem tal capacidade antioxidante devido serem moléculas altamente hidratadas e possuírem grupos hidroxila que podem servir como aceptores e doadores de hidrogênio. Logo, os grupos hidroxila são também sítios ativos que sequestram radicais pelo mecanismo de doação de átomos de hidrogênio (ALIMI et al., 2011). Essas características tornam os polissacarídeos, antioxidantes multipotentes, pois podem agir por múltiplos meios tanto como antioxidantes primários e secundários. O potencial em atuar como antioxidante dependerá de características dos polissacarídeos, como estruturas moleculares, tipos de monossacarídeos que os compõem, peso molecular e presença de grupos químicos ligados ao açúcar, como grupos sulfato, metil e carboxílico que estão intimamente ligados a atividade antioxidante dos polissacarídeos (CHEN et al., 2008).

2.4 Antioxidantes quelantes

Substâncias com propriedades quelantes são aquelas capazes de formar ligações covalentes com íons metálicos, onde quanto mais ligações estabelecem entre o quelante e o metal, maior é a estabilidade do complexo formado. Essa entidade quelante-íon metálico é nomeado de quelato. Quando o quelante forma apenas uma ligação com o íon metálico, é chamado de quelante monodentado, quando forma duas ligações, chama-se bidentado e quando forma três ou mais ligações é denominado polidentado (FLORA; PACHAURI, 2010).

A principal função de quelantes é a inativação de íons metálicos, como cálcio, cobre, ferro e magnésio, através da formação do quelato. Os quelantes são empregados na indústria de saneantes, cosméticos e alimentos. Na indústria de alimentos, os quelantes são utilizados para inibir a precipitação dos corantes e atuando também como auxiliar na ação de conservantes, onde estes são inativados por íons metálicos presentes no produto. Assim os quelantes capturam os íons prejudiciais e aumentam o tempo de ação dos conservantes, principalmente antioxidantes (YUSSUF; COOK, 2004).

O quelante mais utilizado de maneira geral tanto na indústria como na medicina é o quelante de ferro, mais propriamente da espécie Fe^{+2} . Essa espécie é mais inibida pois no organismo humano os sais ferrosos de Fe^{+2} são prontamente adsorvidos e

solúveis em água, muito mais que o ferro na forma inorgânica (FeSO_4) e sais férricos de Fe^{+3} . A ingestão em excesso de ferro em qualquer forma pode ocasionar graves problemas de acúmulo do metal em tecidos do fígado e coração, gerando dores, problemas cardíacos e falha hepática. Logo a remoção deste excesso de ferro no corpo humano é vital e pode ser proporcionada pelos quelantes (MARTÍN et al., 2006).

Assim as substâncias mais utilizadas na indústria alimentícia e farmacológica como quelante de Fe^{+2} são o ácido oxálico e ácido dicarboxílico, conhecidos como antinutrientes e o ácido fítico, proveniente de vegetais como no caso do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. (LIU et al., 2020). Os taninos também possuem atividade quelante de Fe^{+2} e se apresentam no chá preto e café (OLIVEIRA; QUEIROZ; HELBIG, 2001). A lignina e o polissacarídeo hemicelulose também são responsáveis pela quelação do íon Fe^{+2} e se originam naturalmente em vegetais. O quelante sintético mais utilizado na indústria de alimentos é a tetraciclina, conhecida como EDTA (ácido etileno diaminotetracético) empregada em produtos como maionese, marmeladas e sorvetes (SMITH; LEE, 2003).

2.5 *Hovenia dulcis* Thunberg

Espécies invasoras podem ser tanto animais como vegetais e são um problema a nível mundial, pois no geral, espécies não nativas não possuem os mesmos predadores e competidores que as locais, logo avançam no meio e se reproduzem com menos dificuldades que espécies endêmicas ou locais. Plantas invasoras são capazes de formar populações autossustentáveis e prosperar através de uma competição bem sucedida por recursos bióticos e abióticos, prejudicando a flora local (RIBEIRO et al., 2019).

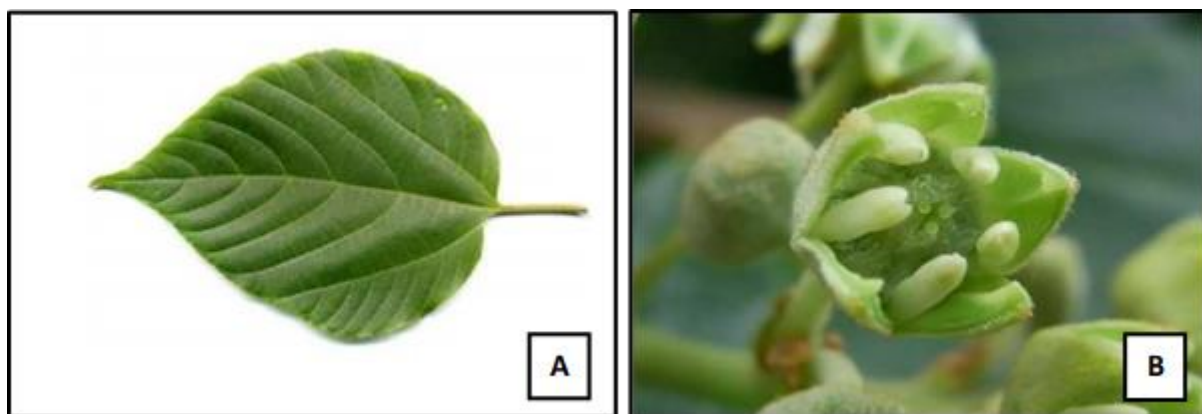
Uma espécie invasora que está prosperando na região sul do Brasil é a árvore frutífera *H. dulcis* Thunb., sendo considerada uma das maiores invasoras das florestas nativas brasileiras. A *H. dulcis* Thunb. é nomeada popularmente como “uva-japonesa”, “uva do Japão”, “pau doce”, entre outros nomes em diferentes partes do Brasil (BIONDI; PEDROSA-MACEDO, 2008). Sua ocorrência natural acontece em países

asiáticos, principalmente Japão, China e as Coréia do Norte e do Sul (RIGATTO; PEREIRA; MATTOS, 2001).

A uva japonesa pertence à família botânica *Rhamnaceae*, que possui 58 gêneros e aproximadamente 900 espécies. Das três espécies existentes na América tropical, *H. dulcis* Thunb., *H. trichocarpa* e *H. acerba*, a primeira é a mais comum em território brasileiro (MAGGIONI; LAROCCA, 2009). A árvore uva japonesa é largamente utilizada por suas características, como ser heliófila, caducifólia, sendo amplamente utilizada como cobertura para o sol no período do verão e possibilitando mais entrada dos raios solares no inverno, período em que perde suas folhas. Pode atingir altura de 10 a 25 metros, com frondosa copa em forma globular. Seu diâmetro médio pode atingir até 50 centímetros e apresenta produção de pseudofrutos doces e massudos que podem ser consumidos por animais (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Apresenta folhas em formato ovalado com serrilhados nas extremidades e pontas em forma de agulha, onde caem da árvore no inverno. Além das folhas simples, a árvore de uva japonesa apresenta pequenas flores hermafroditas com cor branca e verde claro (Figura 2), que possuem cheiro e sabor adocicado, o que atrai a fauna apícola. A uva japonesa produz em grande quantidade um pseudofruto, cujo gosto muito doce se parece com pera madura que também atrai a fauna local para seu consumo (RIGATTO; PEREIRA; MATTOS, 2001).

Figura 2 - Folha da planta *H. dulcis* Thunb. (A) e suas flores características (B)



Fonte: Adaptado de Rigatto; Pereira; Mattos (2001).

A espécie vem sendo intensamente cultivada na Argentina, Paraguai e no sul do Brasil, em locais onde ocorre inverno rigoroso e estações bem definidas e em especial na região da bacia do Uruguai e nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, onde são comumente encontradas em pequenos povoados e regiões agrícolas, implementada como planta de sobra, corta vento e alimento para animais silvestres e domésticos (BIONDI; PEDROSA-MACEDO, 2008).

O que estabeleceu a nomenclatura popular para a *H. dulcis* Thunb. são seus pseudofrutos que erroneamente são chamados de frutos. Os frutos verdadeiros provenientes de uma flor são formados apenas a partir do ovário da planta, enquanto pseudofrutos são formados a partir do ovário, bem como do tecido adjacente, incluindo o receptáculo e o cálice. São estruturas reprodutivas da planta e podem atingir de 6 a 7 mm de diâmetro e forma característica. O pseudofruto apresenta cor marrom com aspecto suculento e sabor doce intenso e em sua extremidade possui de 2 a 4 sementes cor canela e arredondadas (Figura 3) (XU; DENG; SUNG, 2014). Nas regiões do sul do Brasil os pseudofrutos verdes aparecem entre os meses de novembro e dezembro e amadurecem entre os meses de março e maio (BAMPI et al., 2010).

Figura 3 - Pseudofrutos da *H. dulcis* Thunb.



Fonte: Adaptado de Bampi et al. (2010).

2.5.1 Aplicações e caracterização do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

No Brasil a utilização do pseudofruto na produção de alimentos ou qualquer outro derivado não é comum, apenas a madeira é processada. Apesar da *H. dulcis* Thunb. estar densamente ocupando as matas na região sul do país e produzir grande quantidade de pseudofrutos, suas aplicações ainda são escassas, principalmente na produção de alimentos (MAGGIONI; LAROCCA, 2009). Contudo em países onde a uva japonesa é nativa, seu pseudofruto é consumido como alimento e processado para obtenção de inúmeros produtos derivados, como açúcares, vinagres, vinhos e marmeladas (BAMPI et al., 2010).

Porém o interesse sobre a uva japonesa vem aumentando nos últimos anos, com estudos sobre diversas aplicações da planta e suas partes, desde o caule, as folhas o pseudofruto e sementes. Diversos estudos são encontrados na literatura para avaliação das características e diferentes capacidades de utilização da *H. dulcis* Thunb. (YANG et al., 2019a). De acordo com Park et al. (2019) os pseudofrutos de *H. dulcis* Thunb. apresentam efeito hepatoprotetor sobre lesões no fígado. Liu et al. (2015) constataram também o efeito de proteção hepática em camundongos intoxicados por álcool, com resultados significativos de melhora ao empregar os polissacarídeos advindos do pseudofruto da uva japonesa.

Liu et al. (2020) observaram que as sementes de *H. dulcis* Thunb. aumentaram a capacidade de camundongos de acelerar a taxa de redução das concentrações de álcool no sangue em 1 a 2 horas, em comparação com o controle (ingerindo apenas etanol). Kim et al. (2017) observaram que o pseudofruto possui atividade imunoestimuladora *in vitro* com potencial natural de agente imunomodulador. Também possui, segundo estudos, a capacidade antibactericida e atividade antioxidante (NAGARAJ; AKBER; YONG, 2014).

Além destes estudos ligados às atividades bioquímicas da *H. dulcis* Thunb. e sua importância em futuras aplicações no tratamento de algumas enfermidades, outros estudos caracterizaram desde o pseudofruto até a semente e caule, pois além da área da saúde, a planta também serve para alimentação humana e animal em muitas partes da Ásia e América do Sul (BUONO; OLIVEIRA; PAIVA, 2008).

No Brasil a uva japonesa é considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC), porém não sendo consumida com muita frequência, devido a informações escassas de sua composição, cujo conhecimento pode auxiliar na administração segura da planta (RIBEIRO et al., 2019). Assim, para aplicação no ramo alimentício é necessário a caracterização das partes utilizadas, sendo encontrado na literatura alguns estudos sobre a composição da *H. dulcis* Thunb. principalmente do pseudofruto. Contudo, os resultados de alguns autores não são iguais para parâmetros como umidade e teor de açúcares, pois há alterações significativas devido grau de maturação, época do ano, variedade ou procedência e colheita (FIORIO et al., 2015). O pseudofruto da uva japonesa possui proteína bruta, lipídios e fibras, além de polissacarídeos, açúcares redutores como a glicose e açúcares não redutores em sacarose. A Tabela 1 apresenta a caracterização físico-química do pseudofruto *H. dulcis* Thunb. encontrada na literatura.

Tabela 1 - Caracterização físico-química do pseudofruto de *H. dulcis* Thunb.

Análises	BAMPI et al. (2010)	MAIEVES et al. (2015a)	FIORIO et al. (2015)	MOECKE et al. (2000)
	Base úmida (g/100g)	Base úmida (g/100g)	Base úmida (g/100g)	Base úmida (g/100g)
Umidade	54,08	67,65	61,80	-
Cinzas	2,16	1,22	1,65	-
Proteína bruta	3,74	0,41	3,33	3,00
Lipídios	1,42	0,28	0,10	1,60
Fibra bruta	-	-	2,37	3,84
Fibra alimentar	12,56	15,13	-	-
Açúcares redutores	12,57	-	11,00	-
Açúcares não redutores	6,89	16,80	11,80	-
Açúcares totais	19,46	18,05	22,80	-
Carboidratos por diferença	-	-	48,30	47,60
Valor calórico (kcal 100g ⁻¹)	105,56	102,67	207,42	216,80

Fonte: Adaptado de Bampi et al. (2010); Fiorio et al. (2015); Maieves et al. (2015a); Moecke et al. (2000)

Segundo Cecchi (2003), a presença de cinzas em análises físico-químicas de pseudofruto constitui a existência de minerais como K, Na, Ca e Mg. De acordo com estudo de Bampi et al. (2010) o pseudofruto da uva japonesa apresentou $2,16 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de cinzas, o que indica considerável quantidade de minerais. Moecke (2000) constatou a presença de $710 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$ de potássio. Como o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. um potencial aliado na ingestão de potássio na dieta humana, que deve ser de no mínimo 3,5 g. por dia para adultos, tem efeito no controle da pressão arterial elevada (TOMAZONI; SAVIERO, 2019).

O pseudofruto apresentou de acordo com a Tabela 1, valores diminutos de lipídios, variando de $0,10 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ a $1,42 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$. Frutas e hortaliças apresentam em média $3 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ ou menos de lipídios em sua constituição, pois não são alimentos ricos em gordura, já as oleaginosas são os vegetais que mais possuem lipídios (SOUCI; FACHMANN; KRAUT, 2008).

Quando observado o valor obtido por Bampi et al. (2010) e Maieves et al. (2015a) para a fibra alimentar, com resultado de $12,56 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ e $15,13 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ conclui-se que este pseudofruto se enquadra como “fonte de fibras”, pois possui quantidade superior à $3 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de fibra bruta, conforme solicitado pela Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998). Para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., Maieves et al. (2015a), obtiveram $9,66 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ de fibras solúveis, principalmente pectina. A quantidade de pectina encontrada no pseudofruto da uva japonesa é maior que de frutos conhecidos por essa característica como a maçãs, damascos, pêssegos, citros e ameixas (SOUCI; FACHMANN; KRAUT, 2008).

2.6 Métodos de extração de polissacarídeos

A extração pode resultar em um processo demorado, caro ou ineficiente, dependendo do tipo de polissacarídeo a ser extraído e ao método escolhido. A exemplo, os polissacarídeos solúveis em água são normalmente extraídos por aquecimento e fervura, o que resulta em perda de compostos bioativos devido à ionização, hidrólise e oxidação durante a extração. O rendimento e propriedades físico-químicas também podem ser afetados pelo método de extração. A extração de polissacarídeos vegetais é complicada pela presença de polímeros complexos na

parede celular, o que pode impedir a extração de polissacarídeos, porém métodos diferentes podem obter o mesmo polissacarídeo, mas não as mesmas propriedades bioativas e suas composições variam de acordo com seu conteúdo relativo de monossacarídeos (CHEN et al., 2018).

Park et al. (2019), obtiveram o polissacarídeo celulose por exposição do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. à atividade enzimática da enzima celulase produzida por *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3. A extração foi realizada em meio aquoso com pH neutro e concentração do pseudofruto seco em pó de 80 g/L e temperatura de 50 °C e quantidade de celulase de 75 U/mL. Após extração da celulose, foram empregadas as enzimas endocelulase, exocelulase e celobiose para quebra do polissacarídeo em açúcares redutores e não redutores. Além dos açúcares menores foi obtido o flavonoide ampelopsina, que possui atividade de proteção hepática contra os danos causados pelo álcool e atividade antioxidante e regulador de glicose no metabolismo animal.

Outra possibilidade de obtenção de polissacarídeos pode ser por extração acelerada por solvente e extração por água quente. Yang et al. (2019a) avaliaram a extração acelerada por solvente. Os autores obtiveram o rendimento máximo dos carboidratos complexos em 23 minutos de processamento, temperatura de 130 °C em 2 ciclos com solvente. O rendimento máximo centesimal obtido pela extração por solvente foi de $8,62 \pm 0,29\%$ para 150 μm de tamanho de partícula de pó seco do pseudofruto da uva japonesa, já pelo método de extração por água quente, o rendimento máximo extraído de polissacarídeos foi de $6,89 \pm 0,21\%$ em massa centesimal de amostra seca. Após avaliação *in vitro*, o polissacarídeos da *H. dulcis* Thunb. apresentou atividade quelante de Fe^{+2} , antioxidantes e antidiabéticos. Os autores sugeriram a aplicação do carboidrato em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos.

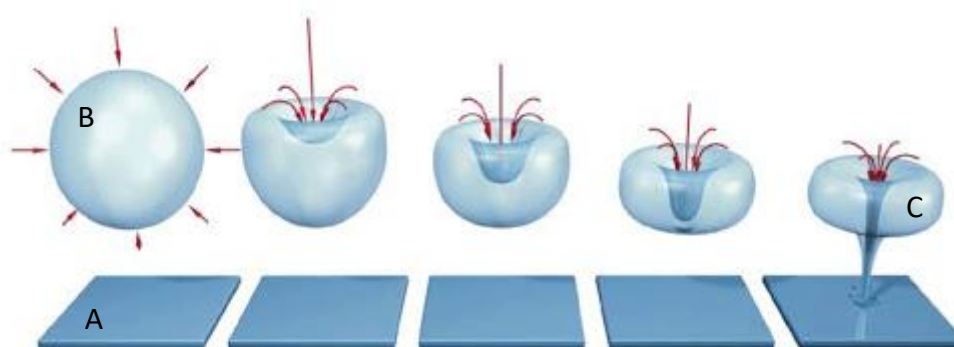
2.6.1 Extração de polissacarídeos por ultrassom

A extração por ultrassom do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. produz polissacarídeos com excelente estabilidade térmica. Os testes reológicos concluem que os polissacarídeos exibem excelentes propriedades coloides e têm o potencial de

servir como agentes espessantes, gelificantes e estabilizadores na indústria de alimentos. Além disso, os polissacarídeos da *H. dulcis* Thunb. apresentaram capacidade de retenção de óleo, antiespumante e geração de emulsões. Apresentam também atividade antioxidante e habilidades de remoção de ânion superóxido e Fe^{2+} atividade quelante (PARK et al., 2019).

Assim a técnica de extração por ultrassom é interessante na obtenção de polissacarídeos úteis para diversas aplicações, além de ser considerada uma técnica simples, rápida, geralmente não envolve uso de reagentes tóxicos e pode ser aplicada em diversos tamanhos de partículas. O processo possui como princípio a ação de ondas mecânicas de baixa frequência, as quais geram cavitação, fenômeno que gera e colapsa bolhas de água que resultam em pontuais áreas de altas temperaturas e pressão na superfície da amostra, facilitando o processo de extração. A extração ocorre, pois, quando a bolha de cavitação colapsa gera um “jato” de altíssima pressão que quando gerado próxima ou sobre a partícula a quebra possibilitando a formação de diferentes substâncias (KRUG, 2008). A Figura 4 apresenta o processo de cavitação por ultrassom.

Figura 4 - Processo de cavitação por ultrassom



(A) Superfície da partícula que sofrerá extração por ultrassom; (B) bolha de água em torno da partícula a ser quebrada; (C) bolha colapsada e formação de “jato” de alta pressão e temperatura, sobre a superfície da partícula, após sofrer efeito da cavitação.

Fonte: Adaptado de Krug (2008).

No estudo de Yang et al. (2019b), os polissacarídeos do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. foram extraídos por meio da tecnologia de ultrassom de alta pressão. As maiores quantidades de material extraído foram obtidas na condição do ultrassom de alta pressão na potência de 330 W, temperatura de 68 °C e tempo de 22 minutos. O conteúdo do polissacarídeo proveniente da extração foi principalmente açúcar neutro na proporção centesimal em massa de 47,81% ($\pm 1,56\%$), proteína com 3,64% ($\pm 0,24\%$) e 12,52% ($\pm 0,15\%$) de ácido urônico. O polissacarídeo era composto por pelos carboidratos manose, ramnose, ácido galacturônico, glicose, galactose e arabinose na proporção molar de 3,20%, 20,40%, 4,81%, 11,14%, 27,37% e 33,08%, respectivamente e massa molecular média de 185,22 kDa. O produto extraído apresentou atividade quelante de Fe^{+2} , propriedades não newtonianas e atividades antioxidantes.

Liu et al. (2015) utilizaram o método de ultrassom para extração dos polissacarídeos da uva japonesa. O procedimento de extração que apresentou maior rentabilidade foi a 60 °C, com tempo de exposição ao ultrassom de 65 minutos e potência de 362 W. Nessa condição o rendimento máximo obtido de polissacarídeos brutos foi de $25,12 \pm 0,14 \text{ mg.g}^{-1}$ de pseudofruto em base seca. Após a extração com o ultrassom, os polissacarídeos foram precipitados com etanol em três frações diferentes (40%, 60% e 80%), nas quais os polissacarídeos se apresentaram após precipitação como açúcares ácidos, principalmente glicose, galactose, xilose, arabinose e ramnose. Os polissacarídeos extraídos apresentaram atividade antioxidante *in vitro*, assim os autores sugerem sua utilização como antioxidante natural em alimentos funcionais e na indústria farmacêutica.

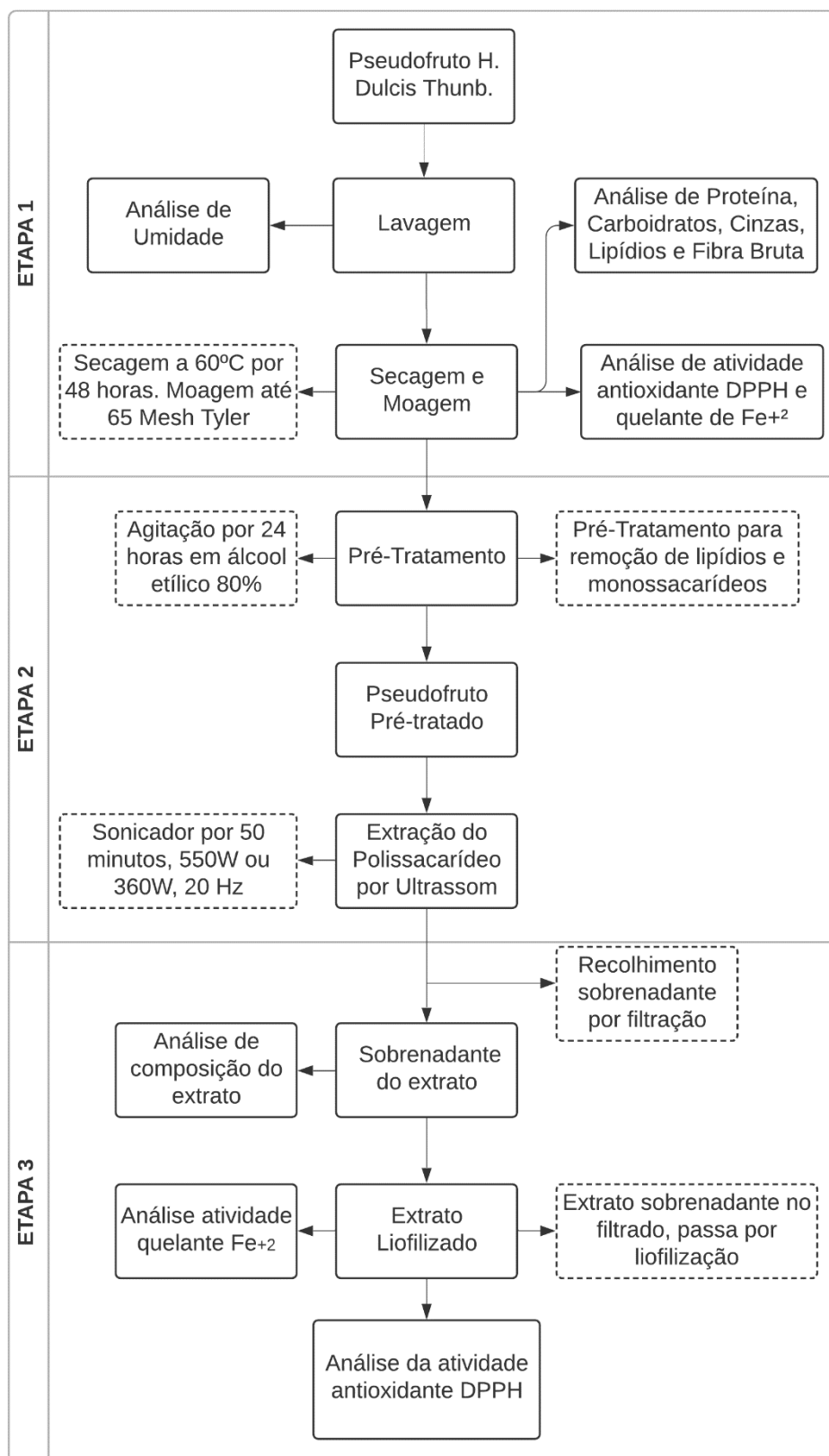
Utilizando também o método de ultrassom, Yang et al. (2020) realizaram a extração de polissacarídeos em três condições diferentes com variação de frequência, essas condições foram ultrassom de frequência única, dupla frequência e três frequências. O rendimento máximo de extração de polissacarídeos ($9,02 \pm 0,29\%$) foi obtido pela condição ultrassônica de dupla frequência com condições de operação, compreendendo 58 °C, 66 minutos, 500 W e 28 e 40 kHz. Nesta extração, as duas diferentes frequências foram empregadas separadamente, com o primeiro banho de 33 minutos a 28 kHz e o segundo banho de 33 minutos a 40 kHz, totalizando os 66 minutos de exposição ultrassônica testado pelos autores neste estudo.

3 METODOLOGIA

Para realização dos objetivos propostos neste trabalho, o estudo foi dividido em três etapas. A primeira compreendida entre a colheita e processamento, como lavagem, secagem e caracterização, com análises físico-químicas do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. A segunda etapa se constituiu no preparo do pseudofruto seco e moído, através do pré-tratamento com álcool etílico 80% e posterior extração dos polissacarídeos do material preparado. A terceira etapa se constitui pela caracterização quantitativa e qualitativa do material extraído na segunda etapa e o estudo do potencial antioxidante e quelante que o extrato e a farinha podem apresentar.

A sequência das etapas um, dois e três realizadas no trabalho está representado na Figura 5, onde apresenta o fluxograma do processo de extração e caracterização do extrato obtidos a partir do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., Em cada etapa estão expostos os procedimentos realizados e as condições de operação, de maneira simplificada.

Figura 5 – Fluxograma de processo de extração e caracterização do extrato do pseudofruto de *H. dulcis* Thunb.



Fonte: Da autora (2020).

3.1 Etapa 1 – Colheita, processamento e caracterização do pseudofruto

A primeira etapa compreendeu a colheita dos pseudofrutos que foram utilizados no trabalho. Os pseudofrutos foram processados, através de uma classificação, sanitização, secagem e posterior caracterização do pseudofruto. A caracterização do pseudofruto serviu para fins de comparação com resultados obtidos em literatura, através de análises físico-químicas de teor de lipídios, carboidratos, proteínas, umidade e fibra alimentar.

3.1.1 Colheita dos pseudofrutos

Os pseudofrutos da uva japonesa foram colhidos na localidade de Dois Lajeados, município do interior gaúcho, situado na serra e localizado a aproximadamente 190 km da capital Porto Alegre (PREFEITURA MUNICIPAL DE DOIS LAJEADOS, 2020). Nesta localidade os pseudofrutos foram colhidos de maneira manual com o corte de todo galho onde os pseudofrutos estão fixados, em pelo menos dez árvores diferentes. A colheita foi realizada no primeiro dia do mês de maio de 2020, pois de acordo com Maieves et al. (2015b) é neste período que os pseudofrutos estão em estado final de maturação, apresentando maior quantidade de água e açúcares.

Após a colheita, de maneira manual, os pseudofrutos foram classificados a fim de retirar do processo possíveis pseudofrutos em estágio de putrefação ou pouco maduros, pseudofrutos com manchas e sinais de predação por animais, restando apenas os pseudofrutos com coloração uniforme e corpo perfeito. Os pseudofrutos apropriados foram cortados do galho e removidas as sementes que se posicionam nas extremidades do corpo frutífero, com auxílio de uma tesoura. Os pseudofrutos foram lavados em água corrente a fim de retirar resíduos de terra ou outras sujidades, sanitizados com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 10 minutos e secados com auxílio de toalhas de algodão, para retirada da água em excesso em torno do pseudofruto.

3.1.2 Processamento do pseudofruto

Com os pseudofrutos higienizados e classificados, foram secos por 48 h a 60 °C utilizando secador de bandejas com circulação de ar (marca Pardal), com intuito de remover umidade. Assim, os frutos foram armazenados em embalagem preta, sem exposição à luz e em ambiente seco, para posterior utilização. A moagem foi realizada utilizando um moinho de facas (Tecnal modelo TE-631) a 4000 rpm, para que não ocorresse caramelização dos açúcares em função do aumento da temperatura. O pseudofruto moído foi classificado utilizando peneira granulométrica 65 *mesh* Tyler, sendo o produto final assumindo um aspecto de farinha.

3.1.3 Determinação do Teor de Umidade

Foram determinados para o pseudofruto sua quantidade de umidade. Foram pesadas previamente seis cápsulas de porcelana e anotada suas massas, após foram colocados nas cápsulas aproximadamente 10 gramas de pseudofruto *in natura* e verificada novamente a massa. As cápsulas com as amostras foram colocadas em estufa a 105 °C ± 2 °C e pesadas a cada 3 horas, até que a massa constante foi atinja. Ao final do processo o teor de umidade foi verificado através da equação 1 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Para as demais análises o pseudofruto desidratado e moído foi utilizado.

$$Umidade\ por\ cento\ \frac{m}{m} = \frac{n^{\circ}\ de\ gramas\ de\ umidade\ (perda\ de\ massa\ em\ g) * 100}{n^{\circ}\ de\ gramas\ da\ amostra} \quad (1)$$

3.1.4 Determinação do Teor de Lipídios

A quantificação de lipídios ou extrato etéreo foi realizada por extração pelo método de Goldfish em extrator de gordura (Marca Tecnal, Modelo TE-044-8/50) de acordo com a metodologia adaptada do Instituto Adolfo Lutz (2008). Inicialmente as câmaras de extração foram secas em estufa por duas horas a 105 °C, em seguida quando atingiram a temperatura ambiente, foram pesadas e suas massas registradas. Foram pesados aproximadamente 5 gramas de pseudofruto seco em papel vegetal e inserido no “cesto metálico” do equipamento. O extrator operou na temperatura de 90

°C, com utilização do solvente hexano, onde as amostras foram submetidas ao arraste dos lipídios pelo solvente por duas horas, com 30 minutos finais para evaporação do solvente. As câmaras foram retiradas e secas novamente em estufa a 105 °C por duas horas e quando atingiram temperatura ambiente, foram pesadas para verificação do teor de lipídios. O teor de lipídios foi verificado através da Equação 2.

$$\text{Lipídios por cento} \frac{m}{m} = \frac{(\text{Massa da câmara pós extração} - \text{Massa da câmara}) * 100}{n^{\circ} \text{ de gramas da amostra}} \quad (2)$$

3.1.5 Determinação do Teor de Fibra Bruta

A amostra desengordurada, resultante da análise de lipídios, foi seca em estufa a 105 °C por duas horas. Foi pesado uma grama da amostra e colocada em um saquinho de material TNT (tecido não tecido) e enumeradas. Os saquinhos foram colocados no suporte do aparelho determinador de fibras (Marca Tecnal, Modelo TE-149), onde foram colocados dois litros de solução de H₂SO₄ 1,25%, ligado o equipamento e deixado operar a 100°C por 30 minutos. A solução ácida foi retirada e introduzido dois litros de água previamente aquecida, deixada por cinco minutos e retirada, este processo com água foi repetido três vezes. Após o enxágue com água o processo foi repetido com uma solução de NaOH 1,25%, seguida também de lavagem com água previamente aquecida.

Quando o processo de lavagem com as soluções ácida e básica foi concluído, os saquinhos foram lavados com álcool etílico P.A e acetona. Colocados em cápsulas de porcelana previamente secas em estufa e pesadas, posteriormente inseridos em estufa a 105°C por quatro horas. Posterior ao período na estufa, quando as amostras atingiram temperatura ambiente, tiveram suas massas verificadas, ainda no conjunto cápsula+amostra. Após, as amostras foram inseridas em mufla para calcinação por duas horas a 550°C, e posterior aferição da massa, quando atingida temperatura ambiente. A quantidade de fibra bruta foi determinada pela Equação 3 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\text{Fibra bruta por cento} \frac{m}{m} = (((C - A) - D)/B) * 100 \quad (3)$$

A: Massa do saquinho vazio (g)

B: Massa da amostra (g)

C: Massa do conjunto cadinho + saquinho pós estufa (g)

D: Massa do conjunto cadinho + saquinho pós mufla (g)

3.1.6 Determinação do Teor de Proteínas

O teor de proteínas foi determinado de acordo com a metodologia de Kjeldahl de teor de nitrogênio. Uma grama de amostra foi pesada em balança analítica, sobre papel filtro e um papel filtro foi pesado para a prova em branco. O papel com a amostra foi transferido para o tubo de Kjeldahl, identificado com cada amostra por números de 1 a 3. Foram adicionados cinco gramas da mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico p.a. A mistura catalítica foi composta de sulfato de potássio mais sulfato de cobre na proporção 10:1. O tubo foi tampado com papel alumínio com um pequeno orifício no centro e colocado no bloco digestor, dentro da capela de exaustão, aquecido lentamente até temperatura de 400 °C até formação de uma solução límpida e transparente de tonalidade azul esverdeada.

A solução foi deixada resfriar e foram adicionados 50 mL de água deionizada ao tubo. O tubo frio foi acoplado no destilador de nitrogênio (Marca Tecnal, Modelo TE-0363) e adicionado 50 mL de NaOH 50% (m/v) (até coloração escura), sendo recolhido em torno de 200 mL de destilado em Erlenmeyer de 250 mL com 25 mL de água destilada e 25 mL de solução de ácido bórico 4% (m/v) com 5 gotas de indicador misto e titulado o destilado com solução de ácido sulfúrico 0,2 N padronizado até ocorrer a viragem de verde para rosa. O percentual de proteínas será calculado pela Equação 4 (SOUTHGATE, 1981).

$$\text{Proteínas por cento} \frac{m}{m} = \frac{V * N * f * Fc * 0,014}{P} * 100 \quad (4)$$

V = Volume de solução de ácido sulfúrico 0,2 N gastos na titulação (mL);

N = Normalidade teórica da solução de ácido sulfúrico 0,2 N;

f = Fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,2 N (1,0016);

P = Massa da amostra (g);

F_c = Fator de conversão da relação nitrogênio/proteína, de acordo com o produto (6,25 para produtos em geral de acordo com a metodologia)

3.1.7 Determinação do Teor de Carboidratos Totais

A determinação do teor de carboidratos totais foi realizada através do método de carboidratos por diferença. Esse método consiste em considerar os valores de proteínas, fibras brutas, lipídios, cinzas e umidade, anteriormente determinados e considera um percentual de 100% e descontados os percentuais das análises consideradas, conforme Equação 5 (CECCHI, 2003).

$$\text{Carboidratos } \frac{m}{m} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ gorduras} + \% \text{ fibras}) \quad (5)$$

3.1.8 Determinação do Valor Calórico

O valor calórico foi determinado em kcal por 100 gramas de pseudofruto, pelo método de conversão das quantidade centesimais de proteínas, lipídios e carboidratos totais presentes no alimento (ANDERSON et al., 1988). Assim o cálculo utilizado é apresentado a Equação (6):

$$\text{Valor Calórico } \frac{\text{Kcal}}{100g} = \left((\% \text{ carboidratos totais} * \frac{4\text{kcal}}{g}) + (\% \text{ proteínas} * \frac{4\text{kcal}}{g}) + (\% \text{ lipídios} * \frac{9\text{kcal}}{g}) \right) \quad (6)$$

3.2 Etapa 2 - Extração de polissacarídeos

A segunda etapa do trabalho compreende um pré-tratamento para preparação do pseudofruto seco e moído para a exposição ao sonificador e consequente extração dos polissacarídeos pelo método de ultrassom, realizado no laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Vale do Taquari - Univates.

3.2.1 Pré-tratamento

Aproximadamente 100g do pseudofruto seco e moído foram imersos em álcool etílico 80% a temperatura ambiente por 24 horas, para remoção de lipídios, monossacarídeos, corantes e outras impurezas de moléculas pequenas. Em seguida a amostra foi filtrada em papel filtro e funil e seca a temperatura ambiente. Após secagem em temperatura ambiente o material passou novamente pela peneira granulométrica 65 *mesh Tyler* (YANG et al., 2019b).

3.2.2 Extração do extrato por ultrassom

A um becker de 250 ml foram adicionados 5 gramas da amostra e 50 ml de água destilada. O conjunto foi submetido ao sonificador (Marca Ultronique, Modelo DESRUPTOR) na condição nomeada de amostra A (A) (Tabela 2), sendo a condição de extração baseada de acordo com estudos de Yang et al. (2019b) e Fidelis (2014).

Tabela 2 - Condição operacional do processo de extração por ultrassom

	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)	Potência (W)
A	60	20	50	550

Fonte: Adaptado de Yang et al. (2019b) e Fidelis (2014).

Após extração por ultrassom, os sobrenadantes da amostra A foram recolhidos por filtração a vácuo em papel filtro. Os papéis filtro, contendo o particulado, foram secos em estufa por duas horas a 105 °C e pesados para verificação do rendimento da extração. O sobrenadante separado do precipitado foi concentrado até 25 mL em rotaevaporador e posteriormente a amostra foi liofilizada em um liofilizador a vácuo.

A quantidade de extrato extraído foi calculada através da equação 6:

$$\text{Quantidade de extrato por cento} = \frac{\text{massa final de extrato seco g}}{\text{massa inicial do pseudofruto pó g}} * 100 \quad (6)$$

3.3 Etapa 3 - Caracterização do extrato

A terceira etapa contou com a caracterização do extrato por cromatografia. Ao final foi avaliada a capacidade antioxidante DPPH *in vitro* do extrato e da farinha assim como suas atividades quelantes sobre Fe^{2+} .

3.3.1 Caracterização do extrato

A amostra de extrato em solução aquosa foi preparada para análise por filtração utilizando um filtro de papel de 13mm e 0,22 μm . Os monossacarídeos componentes dos polissacarídeos do extrato foram detectados com o auxílio de cromatografia pelo cromatógrafo HPLC (Shimadzu Corporation, Japan, model LC-20AD) por dois métodos diferentes. No método 1 a coluna cromatográfica utilizada foi a coluna de carboidrato com fluxo de 1,4 mL/min, temperatura de 30°C, volume de injeção de 20 μL e fase móvel composta por acetonitrila:água (75:25). Já no método 2, a coluna utilizada foi a Aminex HPX-87H, 300x7,8mm, 9 μm com fluxo de 0,5 mL/min, temperatura de 60°C, detector do tipo RID, volume de injeção de 5 μL e fase móvel de H_2SO_4 5 mmol/L. A caracterização foi realizada no Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais, na Universidade de Caxias do Sul.

3.3.2 Determinação do potencial de antioxidante DPPH

A determinação do potencial antioxidante do extrato e da farinha foi quantificado pelo método do radical DPPH, baseado na metodologia de Choi e colaboradores (2002). Para o padrão de ácido ascórbico e extratos (polar e apolar), foram preparados seis concentrações que variaram entre 31,25-0,98 $\mu\text{g/ml}$ (ácido ascórbico), 7,81-250 $\mu\text{g/ml}$ (polar) e 625-10.000 $\mu\text{g/ml}$ (apolar), através de diluições seriadas em solvente etanol. Já a solução de DPPH foi preparada em etanol a 0,3 mM.

A atividade antioxidante das amostras foi conduzida da seguinte forma: 214,3 μL de amostra em cada concentração com adição de 85,7 μL da solução de DPPH. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra contendo 214,3 μL da

amostra e 85,7 µL de etanol. O controle recebeu 214,3 µL de etanol e 85,7 µL de DPPH, todas amostras foram preparadas em triplicata. Após 30 minutos de reação sob abrigo da luz as absorvâncias (abs) foram medidas em equipamento de espectrofotômetro UV-visível em 519 nm (Marca Thermo Scientific, Modelo Genesys 10S UV-VIS). A porcentagem da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi calculada conforme a Equação 7:

$$\text{Atividade DPPH \%} = 100 - \frac{(\text{abs amostra} - \text{abs branco}) * 100}{\text{abs controle}} \quad (7)$$

A concentração inibitória IC₅₀ foi calculada através de regressão linear, onde a abscissa representa a concentração de amostra testada e a ordenada a porcentagem de inibição obtida.

3.3.3 Determinação do potencial de quelante de Fe²⁺

Para avaliação da atividade quelante de íons Fe²⁺, foram utilizados 1 grama de amostra em tubos de ensaio âmbar de 25 mL. Após foram adicionados 3,7 mL de água deionizada ao tubo de ensaio mais 0,1 mL de FeSO₄ 2 mM e 0,2 mL de ferrozina 5 mM [3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-ácido fenil sulfônico) -1,2,4-triazina]. O padrão para este teste foi produzido com a substituição da amostra por 1 mL de água deionizada. A mistura foi agitada por 20 minutos e feita leitura a 562 nm calibrando o aparelho com auxílio de uma amostra com o branco (neste caso foi uma solução de EDTA 2%). A redução na absorvância indica atividade quelante de metais e a atividade calculada de acordo com a Equação 8 (LIMA et al., 2010).

$$\text{Atividade quelante de Fe}^{2+} \text{ por cento} = 100 - \left[\left(\frac{A_p - A_t}{A_p} \right) * 100 \right] \quad (8)$$

A_p: absorvância do padrão

A_t: A_t é absorvância teste (amostras).

A concentração inibitória IC₅₀ foi calculada através de regressão linear, onde a abscissa representa a concentração de amostra testada e a ordenada a porcentagem de inibição obtida.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização do Pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

A utilização do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. ainda é pouco explorada para alimentação humana, tanto na forma natural do pseudofruto com em suas formas processadas em farinhas ou doces e compotas, assim sua caracterização não está largamente disponível na literatura (BAMPI et al., 2010), contudo como o extrato e a farinha obtidos neste trabalho podem vir a serem empregados como aditivos alimentares, a caracterização pseudofruto utilizado se torna importante.

Na caracterização centesimal do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. verificou-se por análises físico-químicas os percentuais de lipídios, proteínas, carboidratos, fibra bruta, umidade e cinzas. Todas análises foram realizadas com os pseudofrutos secos e triturados na forma de farinha, com exceção da análise de umidade que se realizou com os pseudofrutos ainda *in natura*. A caracterização está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Caracterização centesimal do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Análises	Base Úmida (g/100g)	Desvio Padrão Base Úmida	Base Seca (g/100g)	Desvio Padrão Base Seca
Umidade	48,54	±0,91	-	-
Cinzas	1,38	±0,21	2,68	±0,41
Proteína bruta	1,49	±0,05	2,89	±0,09
Lipídios	0,17	±0,01	0,34	±0,03
Fibra bruta	3,25	±0,52	6,32	±1,01
Carboidratos totais	45,17	±0,71	87,78	±1,38
Valor calórico (kcal 100g ⁻¹)	188,20	-	365,72	-

Fonte: Da Autora (2020).

Ao verificar a umidade, o valor encontrado se apresenta inferior aos encontrados na literatura, como 61,18 g.100g⁻¹ (MACHADO et al., 2019), 67,65 g.100g⁻¹ (MAIEVES et al., 2015a), 53,23 g.100g⁻¹ (±0,96) (SOUZA et al., 2017) e 54,08 g.100g⁻¹ (BAMPI et al., 2010), sendo está diferença possivelmente causada pelas diferenças de nutrição do solo, região, chuvas e condições ambientais (MACHADO et al., 2019). A região no período da maturação e colheita do pseudofruto apresentava grave estiagem o que proporcionou baixo teor de umidade e baixa produtividade em grande quantidade de espécies vegetais, como grãos e frutas (SEAPDR, 2020), o mesmo pode ser ocorrido com a *H. dulcis* Thunb., gerando o teor de umidade abaixo do encontrado na literatura.

O teor de cinzas em vegetais pode variar de 0,1% até 15% (MORRETO, 2008), assim o encontrado para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. foi de 1,38 g.100g⁻¹ (±0,41), está dentro destes limites. A quantidade de cinzas em vegetais está relacionado a quantidade de minerais presente no pseudofruto, onde a fração centesimal encontrada neste trabalho se apresentou próxima à verificada por Fiori et al. (2015) de 1,65 g.100g⁻¹ e 1,22 g.100g⁻¹ por Maieves et al. (2015b). Segundo Cecchi (2003), a presença de cinzas mostra a existência de minerais como Cu, Zn, Mg Fe, B

e K, contudo a análise de cinzas não expressa fidedignamente a quantidade qualitativa e quantitativa de minerais do vegetal *in natura*, pois a incineração entre 500 e 570°C pode ocasionar perdas e degradação de alguns minerais como o Mg.

A quantidade de proteína encontrada neste trabalho para o pseudofruto está abaixo do encontrado em literatura com 3,74 g.100g⁻¹ (BAMPI et al., 2010) e 3,33 g.100g⁻¹ (MOECKE, 2000) e acima do encontrado por Maieves et al. (2015) que foi de 0,41 g.100g⁻¹. Contudo, como o método de Kjeldahl para determinação das proteínas se baseia na quantificação de teor de nitrogênio orgânico total, outros compostos nitrogenados podem ser detectados, como no caso das porfirinas, assim a quantidade de proteína determinada pelo método Kjeldahl pode sofrer variações dependendo da quantidade existente de outros compostos interferentes de nitrogênio (CECCHI, 2003).

Apesar do valor de proteína verificado no trabalho se encontrar menor que o encontrado na literatura, o pseudofruto em estudo ainda apresenta quantidade superior de proteína que outros apêndices vegetais como a maçã (*Malus domestica*) com 0,30 g.100g⁻¹ e a banana (*Musa basjoo*) com 1,30 g.100g⁻¹, os quais possuem o restante de sua composição próximo ao do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. (QUIROGA, 2014). Essa quantidade relativamente diminuta de proteína em vegetal é recorrente em diversas espécies, pois as proteínas cumpre basicamente apenas o papel de catalisador de enzimas em processos metabólicos, amadurecimento e senescência, consequentemente tendo a tendência de diminuir seu teor ao longo do avanço da maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os lipídios encontrados em vegetais como frutas e hortaliças apresentam teor diminuto em relação aos outros compostos, apenas oleaginosas apresentam valores consideráveis de lipídios quando comparados a outros vegetais (ROCHA et al., 2012). Assim o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. apresentou 0,17 g.100g⁻¹ ($\pm 0,03$), enquanto que os teores de lipídios encontrados na literatura foram superiores como de 0,41 g.100g⁻¹ (MAIEVES et al., 2015a) e inferiores como encontrado por Almeida; Valsechi (1966) de 0,10 g.100g⁻¹ de lipídios.

O teor de fibra bruta encontrado para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. foi de 3,25 g.100g⁻¹ ($\pm 1,01$), onde a quantidade de fibras presente em vegetais é interessante

ao consumidor, uma vez que a quantidade de fibras brutas está intimamente ligada a existência de compostos bioativos. No Brasil, para um alimento ser considerado fonte de fibras deve possuir mais de 3 g de fibras por 100 g de produto (BRASIL, 1998), assim o pseudofruto em estudo pode ser considerado alimento fonte de fibras, pois ultrapassa este valor. O consumo de 100 gramas do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. já pode suprir 8,55% da quantidade diária necessária de consumo de fibras para homens (38 g dia⁻¹ de fibras) e 13% da quantidade diária de fibras para mulheres (25 g dia⁻¹ de fibras) (TRUMBO et al., 2002).

Na determinação de carboidratos realizada por diferença, o valor encontrado foi de 45,17 g.100g⁻¹ ($\pm 1,38$) o que engloba todos açúcares como monossacarídeos, como glicose e frutose, oligossacarídeos como maltose e rafinose, por exemplo e polissacarídeos como amido e celulose (MORRETO, 2008). Assim a quantidade determinada de carboidratos totais por diferença para o pseudofruto de *H. dulcis* Thunb. são próxima de 48,30 g.100g⁻¹ (FIORIO et al., 2015) e 47,60 g.100g⁻¹ (MOECKE, 2000). A quantidade diária recomendada de consumo de carboidratos por dia para adultos é de 130 g. dia⁻¹ (TRUMBO et al., 2002), logo a quantidade de carboidratos presentes em 100 gramas de pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., supre cerca de 35% da quantidade ideal diária de consumo de carboidratos, sendo o pseudofruto uma fonte interessante de energia.

O valor calórico do pseudofruto se apresentou em 188,20 kcal 100g⁻¹, este resultado se encontra superior ao verificado por Bampi et al. (2010) de 105,56 kcal 100g⁻¹ e 102,67 kcal 100g⁻¹ verificado por Maieves et al. (2015b), contudo o valor encontrado neste estudo é inferior ao encontrado por Moecke et al. (2000) de 216,80 kcal 100g⁻¹ e 207,42 kcal 100g⁻¹ por Fiorio et al. (2015). Como o valor energético é inerente a quantidade de lipídios, proteínas e carboidratos (ANDERSON et al., 1988), o teor calórico irá se alterar de acordo com a composição, logo os autores que encontraram valores superiores deste parâmetro também obtiveram quantidades superiores de carboidratos, o que resulta em valor energético elevado em consideração aos demais.

4.2 Caracterização do extrato do Pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

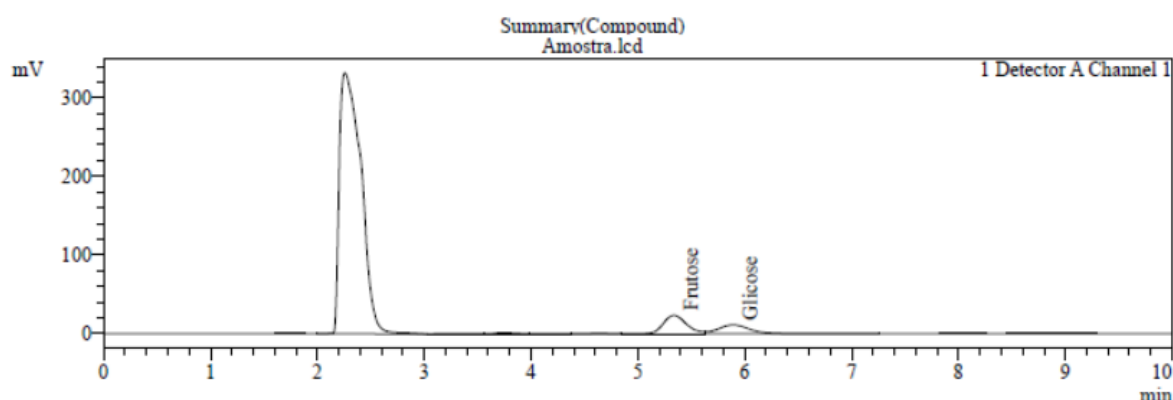
Com o objetivo de extrair polissacarídeos do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., foi utilizado o método extração por ultrassom. Assim, ao final do processo foi obtido através da Equação 6, a quantidade de material extraído em porcentagem. Logo, o rendimento de extração foi de 8,94% ($\pm 1,56$) de material extraído.

A quantidade de material extraído é próxima ao resultado máximo de extração de polissacarídeos de 9,02% ($\pm 0,29$) obtido por Yang et al. (2020), na condição ultrassônica de dupla frequência com condições de operação, compreendendo 58 °C, 66 minutos, 500 W e 28 e 40 kHz. Esse resultado também encontra-se próximo ao obtido por Yang et al. (2019a), pelo método de extração acelerada por solvente com rendimento de extração de 8,62% ($\pm 0,29$).

Contudo, para o método de extração por ultrassom, o rendimento obtido de 8,94% ($\pm 1,56$) de material extraído está abaixo da quantidade obtida por autores em condições de operação diferentes. Para Liu et al. (2015) a maior rentabilidade de polissacarídeos brutos foi de 25,12% ($\pm 0,14$), com tempo de exposição ao ultrassom de 65 minutos, 60 °C e potência de 362 W, já Yang et al. (2019b) obteve um rendimento de material extraído de 47,81% ($\pm 1,56\%$), com condição de extração de 330 W, temperatura de 68 °C e tempo de 22 minutos. Assim, observa-se que a quantidade obtida no processo de extração depende das condições de operação, e com isso diferentes compostos podem ser extraídos.

Com isso a caracterização do extrato obtido foi realizada por cromatografia, por dois métodos diferentes, onde no método 1 foi possível identificar e quantificar açúcares, tais como glicose, frutose, sacarose, lactose, maltose e sorbitol, onde foram identificados os picos correspondentes a frutose e glicose, com tempo de retenção de 5,33 e 5,89 minutos, respectivamente. Assim o perfil cromatográfico dos carboidratos presentes no extrato, pelo método 1 está ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Perfil cromatográfico dos carboidratos presentes no extrato do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., pelo método 1.



Fonte: Da autora (2020).

Já com o método 2, é possível identificar e quantificar açúcares, ácidos orgânicos e álcoois, onde para o extrato analisado foi identificado picos correspondentes a glicose e frutose, com tempo de retenção de 10,99 e 11,88 minutos, respectivamente. O pico de 15,39 minutos pode ser indicativo de ácido láctico, em quantidades traços. Assim através dos métodos 1 e 2, foi possível quantificar os monossacarídeos presentes no extrato, como exposto na Tabela 4.

Tabela 4 – Perfil quantitativo e qualitativo de monossacarídeos presentes no extrato do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. extraído por ultrassom, pelos métodos cromatográficos 1 e 2.

Monossacarídeos	Método 1	Método 2	Concentração média
Glicose (g.L ⁻¹)	1,94	1,71	1,79 (± 0,13)
Frutose (g.L ⁻¹)	3,12	3,01	3,04 (± 0,06)

Fonte: Da autora (2020).

Nos resultados encontrados por Yang et al. (2019b) e Yang et al. (2020) os monossacarídeos identificados como constituintes dos polissacarídeos extraídos foram manose, ramnose, ácido galacturônico, glicose, galactose e arabinose. Enquanto que na extração deste trabalho se obteve apenas os monossacarídeos glicose e frutose. Porém em extrações os polissacarídeos extraídos por diferentes tratamentos ultrassônicos são qualitativamente semelhantes, eles variam apenas de acordo com seu conteúdo relativo de monossacarídeos (SUN et al., 2009). Desta forma pode-se verificar que a condição utilizada de ultrassom neste trabalho não foi efetiva na extração de polissacarídeos característicos do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

A variação de parâmetros como temperatura de extração, potência do ultrassom, frequência e até mesmo quantidade de água na solução solvente:farinha pode influenciar para aumentar ou diminuir a efetividade da extração de polissacarídeos (PEREIRA et al., 2019).

Assim a temperatura de extração é um dos fator que mais influencia a eficiência de extração. O aumento da difusão dos polissacarídeos e a solubilidade no solvente de extração aumentam com o aumento da temperatura, pois causa um incremento da massa de polissacarídeos saindo das partículas do vegetal para a solução de extração. O coeficiente de extração aumenta com o aumento da temperatura de extração devido ao aumento da solubilidade dos polissacarídeos, em uma faixa de temperatura de 60 a 90 °C, contudo não é recomendado que se ultrapasse essa temperatura em função do custo operacional e da degradação do vegetal (YE; JIANG, 2011).

O tempo de extração é outro fator que afeta o rendimento da extração e a seletividade do fluido. Isso ocorre devido a necessidade de tempo de extração suficiente para que o líquido penetre no pó a ser processado. Assim a quantidade de solvente também influencia o rendimento da extração de polissacarídeos por ultrassom, se a proporção de água para matéria-prima for muito baixa, os polissacarídeos do vegetal não podem ser completamente extraídos. Caso contrário, se a proporção for muito alta, isso causará mais custo de processo (LI et al., 2012). Para a extração de polissacarídeos da uva japonesa por ultrassom a proporção ideal de solvente e matéria-prima é de 40: 1 a 100: 1 (mL.g⁻¹) respectivamente, mas não há

registro de mudança no rendimento de polissacarídeos conforme a proporção aumenta (YANG et al., 2019b).

Já o fator que mais influencia no sucesso da extração por ultrassom é a potência do equipamento. Os resultados encontrados por Liu et al. (2015) indicam que o rendimento de extração dos polissacarídeos é aumentado com o aumento da potência ultrassônica e atingiu a faixa de 300 a 450 W, passando a diminuir com o aumento da potência ultrassônica. O ultrassom facilita a ruptura das paredes celulares, de modo que os polissacarídeos podem ser dissolvidos mais rapidamente. No entanto, a potência ultrassônica excessiva pode resultar na degradação da estrutura dos polissacarídeos (LI et al., 2012).

Assim analisando a condição de extração utilizada neste trabalho, a temperatura de extração utilizada estava dentro da faixa ideal de 60 a 90 °C, já a proporção de solvente e matéria-prima foi de 50 mL de água para 5 gramas de farinha, sendo a proporção de líquido de extração muito inferior ao descrito por Yang et al. (2019b) de 40: 1 a 100: 1 (mL.g⁻¹). Já a potência empregada de 550 W, que se tratava da potência máxima do sonicador utilizado, está aquém do ideal de potência ultrassônica descrita por Liu et al. (2015), para extração de polissacarídeos do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Logo, o rendimento abaixo do descrito em literatura e a inexistência de monossacarídeos característicos dos polissacarídeos do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb., para a extração por ultrassom, podem estar relacionados às condições de operação utilizadas para este método de extração.

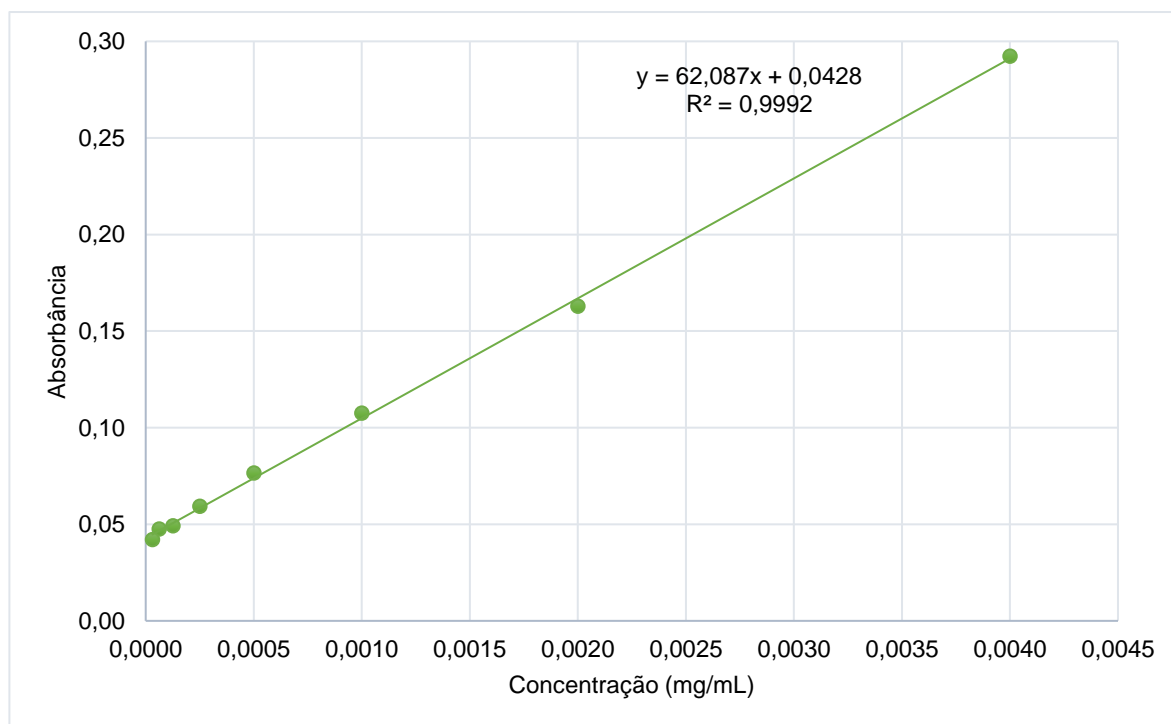
4.3 Atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe⁺² da farinha do Pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Os mecanismos antioxidantes nos tecidos biológicos são extremamente complexos e não existe um método que possa fornecer resultados inequívocos (CAROCHO et al., 2015). Assim as atividades antioxidantes da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. foram verificadas a partir no método DPPH (peroxidação do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e da quelação de Fe⁺². Os resultados foram obtidos a partir das

equações geradas por regressão linear apartir das absorbâncias registradas para cada método e as atividade antioxidante de DPPH e quelantes expressas por meio do IC50, onde representa a concentração mínima da amostra para inibição de 50% do radical DPPH ou para quelação do íon de Fe^{+2} em mg/mL (SILVA et al., 2018).

Para a atividade DPPH da farinha, a equação da reta foi $y = 62,087x - 0,0428$ com $R^2 = 0,9992$, representada na Figura 7, onde apresenta a curva padrão dos valores de concentração versus absorbância.

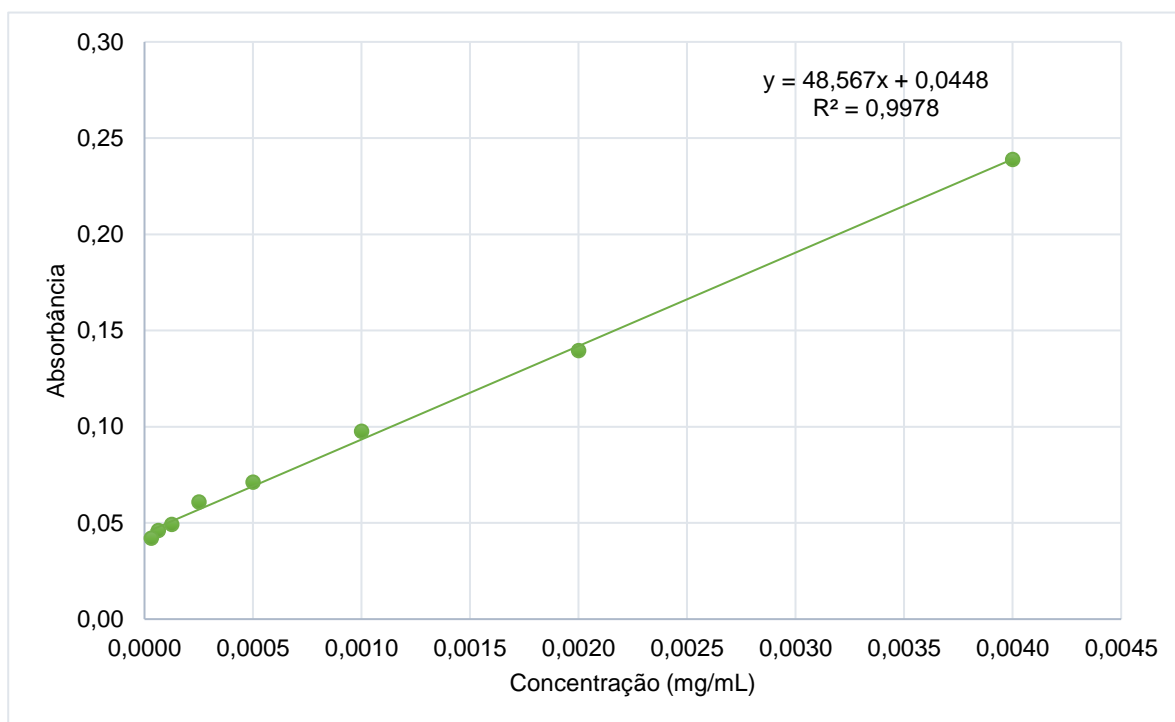
Figura 7 – Curva padrão da atividade antioxidante de DPPH da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.



Fonte: Da Autora (2020).

Já para a atividade quelante de Fe^{+2} da farinha, a equação da reta foi $y = 48,567x - 0,0448$ com $R^2 = 0,9978$, representada no Figura 8, onde apresenta a curva padrão dos valores de concentração versus absorbância.

Figura 8 – Curva padrão da atividade quelante de Fe^{+2} da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.



Fonte: Da Autora (2020).

Assim o potencial de antioxidante DPPH e quelante de Fe^{+2} para a farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. expresso em IC50, está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – IC50 da atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe^{+2} da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Amostra	IC50 (mg.mL ⁻¹)	
	Antioxidante DPPH	Quelante de Fe^{+2}
Farinha	3,36 (±0,01)	2,00 (±0,01)

Fonte: Da Autora (2020).

O valor encontrado para atividade antioxidante de DPPH para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. de 3,36 ($\pm 0,01$) mg.mL⁻¹ (IC50), vai de encontro com o encontrado em literatura de 3,58 ($\pm 0,04$) mg.mL⁻¹ (IC50) (MORALES et al., 2017). Ambos resultados foram obtidos com pseudofrutos da uva japonesa em estágio avançado de maturação, assim a capacidade antioxidante de sequestro do íon DPPH tendem a aumentar (WANG, 2017).

Frutos e pseudofrutos de modo geral, conforme atingem estágios finais de maturação, sofrem um aumento na capacidade antioxidante, apesar da diminuição dos compostos fenólicos totais. O aumento de flavonóis e antocianinas, provavelmente sintetizados a partir de outros compostos fenólicos nos estágios maduros, pode contribuir para esses aumentos, além da maior presença de polissacarídeos em estágios avançados de maturação (MAIEVES et al., 2015b).

A atividade antioxidante de outras partes botânicas da *H. dulcis* Thunb., também já foram caracterizadas por diferentes autores. Cho et al. (2013) descreveram os valores de DPPH dos extratos de folhas obtidos com diferentes solventes (por exemplo, metanol, etanol, água quente, n-hexano) e seus correspondentes compostos isolados, sendo os extratos etanólico e metanólico os com melhores resultados em IC50 de 83 e 112 mg.mL⁻¹, respectivamente. Já, Morales et al. (2017) verificaram atividade antioxidante de DPPH e ABTS para o extrato de caule *H. dulcis* Thunb.

A ação de antioxidante de DPPH presente na farinha do pseudofruto na *H. dulcis* Thunb. se apresenta próxima a outros vegetais, como o potencial antioxidante presente no maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) de 3,50 mg.mL⁻¹ (IC50) e no maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum*) de 3,10 mg.mL⁻¹ (IC50) (SCHMIDT, 2008).

Ambas ações de antioxidante DPPH e quelante de ferro podem estar presentes na *H. dulcis* Thunb. graças a presença de ácido ascórbico, importante agente antioxidante. A uva japonesa apresenta 4,25 mg.100 g⁻¹ de ácido ascórbico (vitamina C) o que representa 4,72% da ingestão diária recomendada (MAIEVES et al., 2015a). Assim a fins comparativos, na Tabela 6, estão as quantidade de IC50 de atividade de DPPH dos três conservantes comerciais mais utilizados o ácido ascórbico, BHA (butilhidroxianisol) e BHT (butilhidroxitolueno) (RABÊLO et al., 2014).

Tabela 6 – Capacidade antioxidante de DPPH de conservantes comerciais e da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Produto	DPPH (IC ₅₀ , mg.ml ⁻¹)
Farinha <i>H. dulcis</i> Thunb. *	3,3600 (±0,0100)
Ácido ascórbico**	0,0026 (±0,0009)
BHA **	0,0177 (±0,0031)
BHT**	0,0041 (±0,0310)

Fonte: *Da autora (2020), **adaptado de Rabêlo et al. (2014).

Assim, apesar dos conservantes possuírem IC₅₀ inferior ao da farinha, observa-se que a mesma possui atividade antioxidante DPPH interessante, uma vez que se trata de um material bruto com pouco processamento, tendo potencial para possuir tal função antioxidante.

Já o valor encontrado para atividade antioxidante de quelante de Fe²⁺ para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. de 2,00 (± 0,01) mg.mL⁻¹ (IC₅₀) vai de encontro com o valor em literatura de 1,89 (± 0,02) mg.mL⁻¹ (IC₅₀) (MORALES et al., 2017). Ambos resultados foram obtidos com pseudofrutos da uva japonesa em estágio avançado de maturação, onde a capacidade para o sequestro de íons de ferro, diminui com a maturação, conforme observado por Morales et al. (2017).

Na literatura há registro do uso da farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. como conservante de carnes e massas para biscoitos. Schaefer et al. (2000) utilizou a farinha do pseudofruto como antioxidante para conservação de mortadela do tipo Bologna, onde obteve desempenho semelhante a conservantes comerciais como BHT e BHA. Já para a preparação de massas de biscoitos do tipo *cookie*, a farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. também foi utilizada como conservante e adoçante natural, onde os resultados de controle microbiológicos se apresentaram conforme os padrões de qualidade estabelecidos pela legislação (ALVES DA CUNHA; REINER; SCHROLL LOSS, 2015)

4.4 Atividade antioxidante DPPH e quelante de Fe^{+2} do extrato do Pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

Na avaliação da atividade antioxidante de DPPH e de quelação de Fe^{+2} , o extrato obtido através da utilização de ultrassom não mostrou atividade antioxidante para ambas análises. O extrato não apresentou absorbância distinta ao branco para análise de DPPH e de quelação de Fe^{+2} assim conclui-se que as condições de extração 550 W, 20 kHz, 60 °C e 50 minutos de exposição ao ultrassom não são favoráveis para obtenção de extrato com essas atividades bioativas.

Isso pode ter ocorrido pela condição de extração a 550 W de potencial ultrassônico, pois apesar do ultrassom facilitar a ruptura das paredes celulares, a potência ultrassônica excessiva pode resultar na degradação da estrutura dos polissacarídeos (LI et al., 2012). Já a atividade de eliminação de radicais DPPH dos polissacarídeos está relacionada à sua composição química, peso molecular e composição dos monossacarídeos, porque está ligada a capacidade de doação de elétrons dos polissacarídeos (YANG et al., 2020). Logo a ausência destes compostos no extrato analisado pode ser uma causa da ausência da atividade antioxidante.

Dos polissacarídeos presentes no pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. os monossacarídeos que os compõem que possuem maior atividade antioxidante DPPH e quelante são os carboidratos glicose, galactose e arabinose, assim diferentes composições de monossacarídeos afetam as propriedades funcionais e capacidade antioxidante de polissacarídeos (CAPEK; MACHOVÁ; TURJAN, 2009). A presença dos monossacarídeos glicose e galactose no extrato *H. dulcis* Thunb. são um indicativo de atividade antioxidante, uma vez que estes carboidratos na forma de D-glicose e D-galactose são precursores do ácido ascórbico, potente antioxidante (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Assim a ausência destes monossacarídeos combinados no extrato, podem estar relacionados também com a ausência de atividade antioxidante quelante e DPPH.

5 CONCLUSÃO

Com este trabalho, verificou-se que o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. proveniente da região serrana do estado do Rio Grande do Sul apresentou em sua composição semelhante ao encontrado em literatura, tendo valores de carboidratos, proteínas, lipídios, fibras brutas e valor energético coerentes com os demais autores.

A farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. apresentou atividade antioxidante do tipo DPPH e quelante de Fe^{2+} próxima ao encontrada na literatura, o que corrobora com a capacidade antioxidante do pseudofruto da uva japonesa. Contudo quando analisado o extrato obtido, este não apresentou capacidade antioxidante, em comparação com as atividades registradas em literatura para esse vegetal.

Já a extração por ultrassom de polissacarídeos do pseudofruto da uva japonesa não ocorreu de forma bem sucedida, pois de acordo com as análises cromatográficas, não há no extrato a presença de monossacarídeos típicos de polissacarídeos extraídos pela técnica de ultrassom. Logo, este fato pode ter relação com as condições de extração utilizadas.

Contudo, observou-se propriedades importantes como atividade antioxidante DPPH e quelante de ferro na farinha do pseudofruto da *H. dulcis* Thunb. o que possibilita diferentes área de aplicações na indústria alimentícia, agregando valor e renda a região.

6 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

A fim de estudar mais propriedades bioativas da *H. dulcis* Thunb. e aprimorar as condições de extração de polissacarídeos por ultrassom, recomenda-se que em trabalhos futuros sejam alterados parâmetros como temperatura, potência do equipamento e tipo de solvente no momento da extração de polissacarídeos, alterações com o objetivo de aumentar o rendimento de material extraído e obter polissacarídeos próximos aos encontrados em literatura para o pseudofruto da *H. dulcis* Thunb.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. M.; CADOCHE, C.; LOPEZ, G. Microstructural changes of potato cells and starch granules heated in oil. **Food Research International**, v. 34, p. 393–947, 2001.
- ALIMI, H. et al. Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. **Environmental Toxicology and Farmacology**, v. 32, n. 3, p. 406–416, 2011.
- ALMEIDA, J. R.; VALSECHI, O. Guia de composição de frutas. **Boletim Técnico 21 - Instituto Zimotécnico**, v. 21, p. 250, 1966.
- ALVES DA CUNHA, M. A.; REINER, D.; SCHROLL LOSS, E. M. Cookies formulated with fermented Japanese grape biomass: a new proposal of use. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 26, 2015.
- ANDERSON, L. A. et al. **Nutrição**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 322, de 29 de novembro de 2019. Autoriza o uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em diversas categorias de alimentos. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/411104>>. Acesso em: 2 abr. 2020.
- BAMPI, M. et al. Composição centesimal do fruto, extrato concentrado e da farinha da uva-do-japão. **Ciência Rural**, v. 40, n. 11, p. 2361–2367, 2010.
- BIONDI, D.; PEDROSA-MACEDO, J. H. Plantas Invasoras Encontradas Na Área Urbana De Curitiba (Pr). **Floresta**, v. 38, n. 1, p. 129–144, 2008.
- BORGES, A. M. Caracterização da farinha de banana verde. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 39, 2009.
- BRASIL. Portaria n.27 SVS/MS, de 13 de janeiro de 1998. A Secretaria de Vigilância Sanitária do MS aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional complementar. Diário Oficial da União, 1998 16 jan (11-E):1; Seção 1, 1998.
- BUONO, R. A.; OLIVEIRA, A. B. DE; PAIVA, E. A. S. Anatomy, ultrastructure and chemical composition of food bodies of *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae). **Annals of Botany**, v. 101, n. 9, p. 1341–1348, 2008.
- CAPEK, P.; MACHOVÁ, E.; TURJAN, J. Scavenging and antioxidant activities of immunomodulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis* L. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 44, n. 1, p. 75–80, 2009.
- CAROCHO, M. et al. Melissa officinalis L. decoctions as functional beverages: A bioactive approach and chemical characterization. **Food and Function**, v. 6, n. 7, p. 2240–2248, 2015.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Unicamp, 2003.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

CHEN, G. et al. Polysaccharides from bamboo shoots processing by-products: New insight into extraction and characterization. **Food Chemistry**, v. 245, n. August, p. 1113–1123, 2018.

CHEN, H. et al. Antioxidante activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (*Camellia Sinensis*). **Food Chemistry**, v. 106, p. 559–563, 2008.

CHENG, J.-J. Studies on anti-inflammatory activity of sulfated polysaccharides from cultivated fungi *Antrodia cinnamomea*. **Food Hydrocolloids**, v. 53, n. 5, p. 37–45, 2016.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed., 2005.

CHO, J. Y. et al. Isolation and structural determination of a novel flavonol triglycoside and 7 compounds from the leaves of oriental raisin tree (*Hovenia dulcis*) and their antioxidative activity. **Food Science and Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 115–123, 2013.

CHOI, C. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparison. **Plant Science**, v. 163, p. 1161–1178, 2002.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DE BIAGGI, M. et al. Emerging species with nutraceutical properties: Bioactive compounds from *Hovenia dulcis* pseudofruits. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125816, 2020.

FALLER, A. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 211–220, 2009.

FIDELIS, G. Otimização da extração de polissacarídeos sulfatados da alga vermelha *Gracilaria birdiae* e análise da atividade anticoagulante e antioxidante. **Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Faculdade de Ciências Biológicas**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.

FIORIO, J. L. et al. Potencial de Utilização de Uva-do-japão (*Hovenia Dulcis* T.) para Produção de Fermentado Alcoólico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 3, p. 277–284, 2015.

FLORA, S. J. S.; PACHAURI, V. Chelation in Metal Intoxication. **International Journal of Environmental Research Public Health**, v. 7, p. 2745–2788, 2010.

GARCIA-CRUZ, C. H. Uso de hidrocolóides em alimentos: revisão. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 87, p. 19–29, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1ª Edição Digital. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, 2008.

KIM, H. et al. A standardized extract of the fruit of *Hovenia dulcis* alleviated alcohol-induced hangover in healthy subjects with heterozygous ALDH2: A randomized, controlled, crossover trial. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 209, n. 8, p. 167–174, 2017.

KOLEVA, I. et al. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 8, p. 8–17, 2012.

KRUG, F. J. Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. In: **Métodos de preparo de amostras**. p. 30–35. 2008

LABORATÓRIO DE ANÁLISES E PESQUISAS AMBIENTAIA. Relatório de cromatografia. **Universidade de Caxias do Sul**, 2020.

LEWINSOHN, T.; PRADO, P. I. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento**. São Paulo: Editora Contexto, 2002.

LI, X. et al. Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Hohenbuehelia serotina* by response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 4, p. 523–530, 2012.

LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: Atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 20–24, 2010.

LIMA, R. B. **Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rhamnaceae**. 5. ed. São Paulo: 2006.

LIMA, R. S. N. **Caminhando pela bioquímica**. Fortaleza: Virtualbooks, 2003.

LIU, W. et al. Effects of drying methods on the physicochemical characteristics and bioactivities of polyphenolic-protein-polysaccharide conjugates from *Hovenia dulcis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 1211–1221, 2020.

LIU, Y. et al. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Hovenia dulcis* peduncles and their antioxidant potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 350–357, 2015.

LORET, C. et al. Rheological characterization of the gelation behaviour of maltodextrin aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 2, p. 153–163, 2004.

MACHADO, G. G. L. et al. CARACTERIZAÇÃO DE PSEUDOFRUTOS DE *Hovenia dulcis*. **X Simpósio de Pesquisa e Inovação**, p. 2015–2019, 2019.

MAGGIONI, M.; LARocca, J. L. Levantamento florístico de um fragmento de floresta ombrófila Mista em Farroupilha/RS. **X SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - PUCRS**, v. 10, n. 2, p. 207–218, 2009.

MAIEVES, H. A. et al. Uva-do-japão (*Hovenia dulcis*) – Valor nutricional e

aceitabilidade. **Revista Técnica**, p. 1–4, 2015a.

MAIEVES, H. A. et al. Antioxidant phytochemicals of *Hovenia dulcis* Thunb. peduncles in different maturity stages. **Journal of Functional Foods**, v. 18, n. 8, p. 1117–1124, 2015b.

MÁRQUEZ, L. R. **A fibra terapêutica**. 2. ed. São Paulo: BYK Química, 2011.

MARTÍN, M. et al. Evidencia por resonancia magnética de la eficacia del tratamiento quelante combinado en la miocardiopatía por depósito férrico. **Revista Espanola de Cardiologia**, v. 59, n. 1, p. 75–77, 2006.

MOECKE, E. H. S. Composição química e estudo das estruturas histológicas do pedúnculo da *Hovenia dulcis*. **Alimentos para o terceiro milênio.**, v. 17, p. 58–63, 2000.

MORALES, P. et al. *Hovenia dulcis* Thunb. pseudofruits as functional foods: Phytochemicals and bioactive properties in different maturity stages. **Journal of Functional Foods**, v. 39, n. 5, p. 37–45, 2017.

MORRETO, E. **Introdução à ciência de alimentos**. 2. ed. Florianópolis: Editora UFSC, 2008.

NAGARAJ, B.; AKBER, I.; YONG, R. L. Phyto-synthesis of gold nanoparticles using fruit extract of *Hovenia dulcis* and their biological activities. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 745–751, 2014.

NAJAFPOUR, G. D. **Biochemical Engineering and Biotechnology**. Babol: Elsevier, 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

NUNES, R. M. et al. Avaliação Da Biocompatibilidade De Um Polissacarídeo De Goma Guar Comparado a Hilano G-F20. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. S 1, p. S405, 2017.

OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K. S.; HELBIG, E. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arquivos Latinoamericanos de Nutrição**, v. 51, p. 276–283, 2001.

PREFEITURA DOIS LAJEADOS. Localização do município. Disponível em: <<https://doislajeadosrs.com.br/4548-2/>> Acesso em: 20 ago. 2020

PARK, J. W. et al. Enhanced extraction of reducing sugars from fruit of *Hovenia dulcis* with treatment of cellulase and sequential production of ethanol and acetic acid containing ampelopsin from extracted reducing sugars. **Industrial Crops and Products**, v. 139, n. March, p. 111522, 2019.

PEREIRA, G. A. et al. Obtaining a novel mucilage from mutamba seeds exploring different high-intensity ultrasound process conditions. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 55, n. January, p. 332–340, 2019.

- QUIROGA, A. L. Dossiê Proteínas. **Food ingredients Brasil**, v. 28, p. 30–58, 2014.
- RABÊLO, S. V. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of extracts from atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 265–271, 2014.
- RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.
- RIBEIRO, V. D. M. et al. Allelopathic effect of *Leucaena leucocephala* (Lam.) R. de Wit. And *Hovenia dulcis* Thunb. And *Mimosa bimucronata* DC. Kuntze and *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. germination. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 74, n. 4, 2019.
- RIGATTO, P. A.; PEREIRA, J. C. D.; MATTOS, P. P. Características Físicas, Químicas e Anatômicas da Madeira de *Hovenia dulcis*. **Embrapa Florestas**, v. 20, n. 5, p. 205–214, 2001.
- ROCHA, N. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–270, 2012.
- SCHAEFER, S. V. et al. Aplicação da farinha da *Hovenia dulcis* T. como antioxidante em mortadela do tipo Bologna. **29o SIC UDESC**, p. 5–6, 2000.
- SCHMIDT, E. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2008.
- SEAPDR - SECRETARIA DA AGRICULTURA PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL. **RELATÓRIO OFICIAL Nº 01/2020-SEAPDR**. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/relatorio-oficial-sobre-a-estiagem-seapdr>> Acesso em: 15 out. 2020.
- SILVA, L. A. DA et al. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**, v. 12, n. 2, p. 117–126, 2018.
- SMITH, J. R.; LEE, R. G. EDTA e seus sais. **Revista IJPC - Anfarmag**, v. 3, n. 5, p. 186–188, 2003.
- SOUCI, S. W.; FACHMANN, W.; KRAUT, H. Food composition and nutrition tables. **MedPharm Scientific Publishers**, v. 52, n. 3, p. 128–152, 2008.
- SOUTHGATE, D. A. T. Expert Consultation on Energy and Protein Requirements. In: **The relationship between food composition and available energy**. p. 258–296, 1981.
- SOUZA, P. M. et al. Composição nutricional e atividade antioxidante da uva japonesa (*Hovenia Dulcis* Thunberg). **XXVI EAIC**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2017.
- STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Capt. 1. In: **Food Polysaccharides and their applications**. 2. ed. Florida: CRC Press, p. 238–245. 2016.

SUN, L. et al. Preparation of different molecular weight polysaccharides from *Porphyridium cruentum* and their antioxidant activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, n. 1, p. 42–47, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TOMAZONI, T.; SAVIERO, J. Consumo de potássio de idosos hipertensos participantes do Programa Hiperdia do município de Caxias do Sul, RS. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 16, n. 4, p. 246–250, 2019.

TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, p. 1621–1630, 2002.

VIEIRA, R. **Fundamentos de Bioquímica: textos didáticos**. Belém: Universidade Federal do Pará, 2003.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. E. **Química orgânica: estrutura e função**. Porto Alegre: Bookman, 2013.

WANG, Z.-J. Review on cell models to evaluate the potential antioxidant activity of polysaccharides. **Food & function**, v. 8, n. 3, p. 915–926, 2017.

XU, B. J.; DENG, Y. Q.; SUNG, C. K. Advances in Studies on Bioactivity of *Hovenia dulcis*. **Agric. Chem. Biotechnol**, v. 47, n. 1, p. 1–5, 2014.

YANG, B. et al. Japanese grape (*Hovenia dulcis*) polysaccharides: New insight into extraction, characterization, rheological properties, and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 631–644, 2019a.

YANG, B. et al. High-pressure ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Hovenia dulcis*: Extraction, structure, antioxidant activity and hypoglycemic. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, p. 676–687, 2019b.

YANG, B. et al. *Hovenia dulcis* polysaccharides: Influence of multi-frequency ultrasonic extraction on structure, functional properties, and biological activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 1010–1020, 2020.

YE, C. L.; JIANG, C. J. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L. by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 495–502, 2011.

YUSSUF, N.; COOK, R. S. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 2. ed. Whashington, DC: American Pharmaceutical Association, 2004.



UNIVATES

R. Avelino Tallini, 171 | Bairro Universitário | Lajeado | RS | Brasil
CEP 95900.000 | Cx. Postal 155 | Fone: (51) 3714.7000
www.univates.br | 0800 7 07 08 09